

Allogene Milztransplantation beim Hund
mit anschließender
autologer Rücktransplantation der Milz
auf das ursprüngliche Spendertier
bei gleichzeitiger
allogener Nierentransplantation

Gunther O. Hofmann

1982

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 2014774

Aus dem Transplantationszentrum (Leiter: Prof.Dr.med.W.Land)
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
(Direktor: Prof.Dr.med. G.Heberer)

und dem Institut für Chirurgische Forschung
(Vorstand: Prof.Dr.med.Dr.med.h.c.W.Brendel)

der Universität München, Klinikum Großhadern

Allogene Milztransplantation beim Hund
mit anschließender
autologer Rücktransplantation der Milz
auf das ursprüngliche Spendertier
bei gleichzeitiger
allogener Nierentransplantation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gunther O. Hofmann
aus München

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

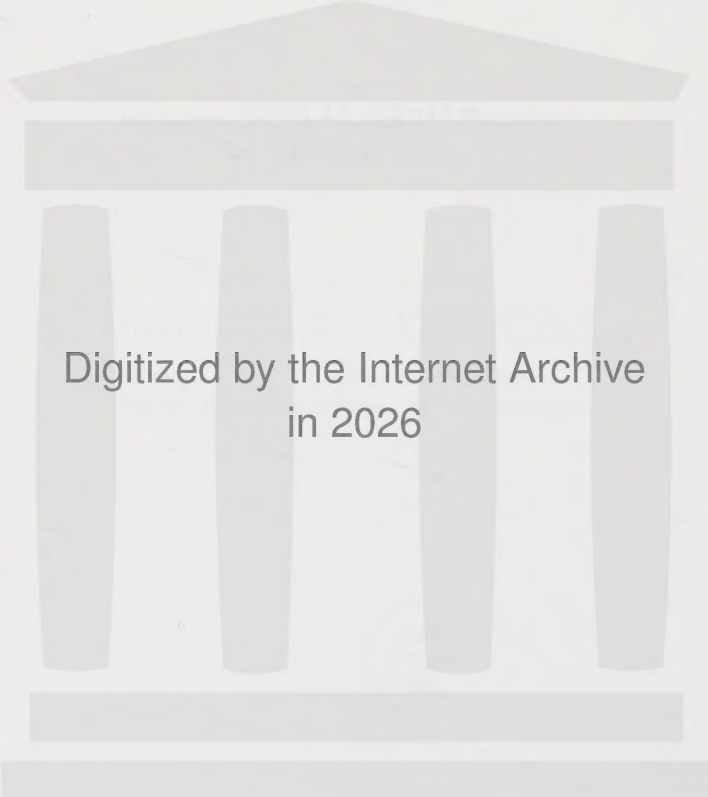
Berichterstatter: Prof. Dr. W. Land
Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Heberer

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. November 1982



MEINEN ELTERN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0013

G L I E D E R U N G		Seite
1.	<u>Einleitung</u>	1
1.1.	Unspezifische Immunsuppression nach Organ- transplantationen	1
1.2.	Problem- und Fragestellung dieses Experimentes	4
2.	<u>Methodik</u>	5
2.1.	Die Versuchsanordnung	5
2.2.	Die Versuchstiere	5
2.3.	Die Versuchsreihen	7
2.4.	Vorbereitung der Hunde auf die Operation	8
2.5.	Narkose der Versuchstiere	8
2.6.	Verwendetes Nahtmaterial und chirurgisches Instrumentarium	11
2.7.	Chirurgisch-technisches Vorgehen bei den Versuchen	11
2.7.1.	Die allogene Milztransplantation (1.Operation)	11
2.7.1.1.	Operation am vorläufigen Milzspender und potentiellen Nierenempfänger (Hund A)	11
2.7.1.2.	Operation am vorläufigen Milzempfänger und späteren potentiellen Nierenspender (Hund B)	17
2.7.2.	Die autologe Milzrücktransplantation mit allogener Nierentransplantation (2.Operation)	20
2.7.2.1.	Operation am Nierenspender (Hund B)	20
2.7.2.2.	Operation am Milz- und Nierenempfänger (Hund A)	26
2.7.3.	Venenplastik für die Milzvenenanastomose	29
2.8.	Nachbehandlung der operierten Hunde	30
2.8.1.	Prophylaxe der akuten nekrotisierenden Pankreatitis	30
2.8.2.	Vermeidung der Thrombosierung von A. und V. lienales	33
2.8.3.	Therapie von intra- und postoperativen Blutverlusten	34
2.9.	Funktionelle und morphologische Kriterien der Funktionstüchtigkeit der transplantierten Organe	34
2.9.1.	Methoden zur Funktionsbeurteilung der transplantierten Milz	34
2.9.1.1.	Intraoperative Untersuchung der allogenen transplantierten Milz	35
2.9.1.2.	Pathologische und histologische Untersuchung der Milz	35

2.9.2.	Funktionelle und morphologische Beurteilung der transplantierten Niere	36
2.9.2.1.	Klinische und serologische Verlaufskontrolle in der Phase nach der allogenen Nierentransplantation	36
2.9.2.2.	Pathologische und histologische Untersuchung der Niere	36
2.10.	Immunologischer Aktivitätsnachweis der transplantierten Milz	37
2.10.1.	Immunisierung der Hunde gegen Schaf- oder gegen Pferdeerythrozyten	37
2.10.2.	Serologischer Nachweis von Antikörper gegen Schaf- und gegen Pferdeerythrozyten	39
2.10.2.1.	Direkter Hämagglutinationstest	39
2.10.2.2.	Modifizierter Mancini-Test	40
2.10.3.	Nachweis von antikörperbildenden Zellen und DLA-Typisierung der Versuchstiere	43
2.10.3.1.	Direkter und indirekter Plaque-Test	43
2.10.3.2.	DLA-Gewebetypisierung der Versuchstiere	47
2.11.	Statistische Methoden der Versuchsauswertung	48
3.	<u>Ergebnisse</u>	49
3.1.	Technische Durchführbarkeit des Experimentes und Eindämmung der Komplikationsrate	49
3.1.1.	Das Schicksal der Versuchstiere	49
3.1.2.	Komplikationen bei der Milztransplantation am Hund	50
3.1.2.1.	Thrombosierung von A. und V. lienales	50
3.1.2.2.	Akute nekrotisierende Pankreatitis	52
3.1.2.3.	Darminvaginationen und letale Narkosekomplikationen	53
3.1.2.4.	Blutungskomplikationen	53
3.1.3.	Senkung der Komplikationsrate	53
3.2.	Beeinflussung der Überlebenszeit des allogenen Nierentransplantates durch die gleichzeitige autologe Milzrücktransplantation	54
3.2.1.	Klinischer Verlauf nach der Nierentransplantation	54
3.2.2.	Überlebenszeiten der allogenen Nierentransplantate	59
3.3.	Makro- und histopathologische Ergebnisse	60
3.3.1.	Milz	60

3.3.1.1.	Befunde bei den Sektionen	60
3.3.1.2.	Ergebnisse der histologischen Untersuchung	61
3.3.2.	Niere	66
3.3.2.1.	Befunde bei den Sektionen	66
3.3.2.2.	Ergebnisse der histologischen Untersuchung	66
3.4.	Immunbiologische Ergebnisse	67
3.4.1.	Titerverlauf an hämagglutinierenden Antikörpern	70
3.4.2.	Titerverlauf an hämolysierenden Antikörpern	76
3.4.3.	Ergebnisse des Plaque-Tests	82
3.4.4.	Ergebnisse der DLA-Typisierung	82
4.	<u>Diskussion</u>	83
4.1.	Erläuterung der theoretischen Grundlagen dieses Experimentes	83
4.1.1.	Immunologische Situation in Hund A nach der 2.Operation	83
4.1.2.	Zur Rolle der Suppressor-Zellen bei der spezifischen Immunsuppression	83
4.1.3.	Zur Rolle der anti-idiotypischen Antikörper bei der spezifischen Immunsuppression	86
4.2.	Operativ-technischer Teil des Experimentes	87
4.2.1.	Vorarbeiten auf dem Gebiet der experimentellen und klinischen Milztransplantation	87
4.2.2.	Senkung der Komplikationsrate bei der Hundemilztransplantation	91
4.2.3.	Innervation der Hundemilz und Konsequenzen für die Transplantation dieses Organes	94
4.2.4.	Abhängigkeit immunologischer Ergebnisse vom systemischen oder portalen Gefäßanschluß der transplantierten Milz	95
4.3.	Immunologischer Teil des Experimentes	96
4.3.1.	Physiologische und anatomische Unterschiede der Milzen verschiedener Arten	97
4.3.2.	Immunisierung der Hunde, Plaque-Test und "Zellchämärismus"	99
4.3.3.	Immunologische Aktivität der Milz von Hund A in Hund B	101
4.4.	Mögliche Modifikation des Versuchsansatzes	103
5.	Zusammenfassung	106
6.	Literaturnachweis	107
	Anhang	120

1. EINLEITUNG

1.1. Unspezifische Immunsuppression nach Organtransplantation

Die Frequenz der Organtransplantationen hat sich im Laufe der letzten Jahre sprunghaft erhöht und wird auch in absehbarer Zukunft weiter steigen. Weltweit wurden im vergangenen Vierteljahrhundert mehr als 30.000 Nieren, 300 Herzen, 260 Lebern und etwa 40 Lungen transplantiert (118). Auch die Transplantation anderer Organe, wie z.B. Pankreas, wird nach Ansicht renommierter Transplantationschirurgen zukünftig eine vorsichtige Erweiterung der Indikationsstellung erfahren.

Gleichzeitig ist die Zahl chronisch nierenkranker Patienten im Zunehmen begriffen. 1982 wird es in der Bundesrepublik rund 17.000 chronisch Nierenkranke geben (W.Land in 60), für die zum größeren Teil ein Weiterleben nur mit chronischer Hämodialyse vereinbar ist, weil nach wie vor die Anzahl der zur Verfügung stehenden Spenderorgane den zur Transplantation erforderlichen Organbedarf nicht deckt. Wenngleich Nierentransplantation und Hämodialyse nicht immer als konkurrierende Therapieverfahren angesehen werden dürfen, stellt die Transplantation für den Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz die attraktivere Alternative dar. Obwohl die chronisch intermittierende Hämodialyse eine weitgehende Rehabilitation chronisch Nierenkranker ermöglicht, determiniert sie dennoch auf Grund ihrer Komplikationen die Prognose des Dialysepatienten. Die Letalität, vorwiegend auf Grund kardialer und gastrointestinaler Dialyse-Komplikationen ('Dialyse-Ulkus'), beträgt derzeit etwa 5% (61). In letzter Zeit wird auch eine zunehmende Häufung von Hepatitis-B-Infektionen unter den Patienten von Dialyse-Zentren beobachtet (1). Auch die Gefäßkomplikationen nehmen mit zunehmender Dauer der Dialysebehandlung zu. Es liegen Untersuchungen vor, nach denen die überwiegende Mehrzahl der Dialysepatienten ein beeinträchtigtes psychisches Empfinden angeben. Nach erfolgreicher Nierentransplantation zeigen diese Patienten eine wesentliche Besserung ihrer körperlichen Verfassung und psychischen Stabilität, was vor allem auf die zeitliche und örtliche Ungebundenheit zurückzuführen ist (48).

Diese wesentliche Verbesserung des physischen und psychischen Befindens dieser Patienten kann nur durch die erfolgreiche Transplantation einer Niere erreicht werden. Möglicherweise kommt der allogenen Nierentransplantation in Zukunft eine zusätzliche Bedeutung durch die Behandlung metabolischer Defektzustände (Fabry' Syndrom, Amyloidose, Fanconi-Syndrom, Nagel-Patella-Syndrom) zu, wenn diese kombiniert mit einer terminalen Niereninsuffizienz auftreten (99).

Vom operativ-technischen Standpunkt sind - zumindest was die klinische Organtransplantation betrifft - keine bedeuten den Probleme mehr vorhanden. Bedingt durch die Histoinkompatibilität zwischen Empfänger-Organismus und Spender-Organ, schwebt aber noch immer über den technischen Erfolgen der Organtransplantation das Damoklesschwert der Abstoßung. In den letzten 10 Jahren wurden hinsichtlich des Transplantatschutzes vor Abstoßung keine entscheidenden Verbesserungen mehr erreicht (25). Solange keine durchschlagenden neuen Erkenntnisse in der Transplantationsimmunologie vorliegen und klinisch zur

Anwendung kommen können, wird auch in Zukunft etwa jede zweite allogene transplantierte Niere nach Ablauf eines Jahres ihre Funktion einstellen (60,117,118,122).

Derzeit muß das die Abstoßung verursachende - physiologisch aber lebensnotwendige - körpereigene Immunsystem des Transplantatempfängers massiv und unspezifisch oft lebenslang supprimiert werden. Angewandt werden Azathioprin, Prednison, Methylprednisolon, Antilymphozytenglobulin, lokale Röntgenbestrahlung und z.T. zusätzliche Splenektomie (32,60,112,117). Diese Maßnahmen der Immunsuppression richten sich global gegen alle, vorwiegend aber gegen die zellulären Immunitätsmechanismen. Die Komplikationen, welche diese Ausschaltung körpereigener Schutzmechanismen nach sich zieht, sind vielfältig und gravierend zugleich.

Azathioprin ruft als Purinantagonist bei einer Reihe von Transplantatempfängern, neben der Unterdrückung der Abstoßungsreaktion, eine massive Leuko- und Thrombopenie hervor (89). Die dadurch erhöhte Infektionsgefahr durch opportunistische Keime stellt das Hauptproblem dieser immunsuppressiven Therapie dar (32,39,46,73,89,104,112,130,146). Unter Immunsuppressiva können an sich seltene Infektionen mit normalerweise benignem Verlauf für den Transplantationspatienten lebensbedrohlich werden. Oft führt dann nur eine drastische Reduzierung der Immunsuppressiva zum Erfolg, wodurch andererseits eine Abstoßung des Transplantates in Kauf genommen werden muß (46,130). Allzuoft führen aber trotzdem fulminante Infektionen mit septischem Verlauf zum Exitus des Patienten. Dies war z.B. die Todesursache bei 50% aller bisher durchgeführten Herztransplantationen (146). Zusätzlich weisen immunsuppressiv-behandelte Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko auf (39,76,104,112,121). 5-7% der Patienten entwickeln Tumoren 'de novo' und tragen somit eine 100fach vergrößerte Inzidenz gegenüber einer Vergleichspopulation (112,121). Das Auftreten eines Malignoms unter Immunsuppression zwingt dann in gleicher Weise wie schwer verlaufende Infektionen oft zum Abbruch der Immunsuppression und damit zur Aufgabe des Transplantates (112). Der hemmende Einfluß von Azathioprin auf die Erythropoese des Knochenmarks ('Knochenmarksdepression') verstärkt bei Nierentransplantierten die ohnehin schon oft bestehende Anämie (39).

Der therapeutische Wert der Steroide ist bei der Unterdrückung einer Transplantatabstoßung umstritten (85). Auch die Cortison-Präparate verursachen eine ganze Reihe von Komplikationen: z.B. verzögerte Wundheilung, Steroidpsychosen, sterile Knochennekrosen (besonders oft am Femurkopf), Cushing-Syndrom, Steroiddiabetes, gastrointestinale Blutungen und autonomen sekundären (= tertiären) Hyperparathyreoidismus (32,89,104).

Die Liste der aufgeführten Komplikationen, welche sich noch beliebig verlängern ließe, zeigt, daß die derzeit in der klinischen Transplantationsmedizin geübte Immunsuppression zur Unterdrückung der Abstoßung allogener Organtransplantate als noch nicht optimal angesehen werden kann. In Abb. 1 wird diese Situation bildlich dargestellt: das Leben des Transplantationspatienten wird gleichsam in einem "Kraftfeld" von drei Gefahrenquellen bedroht: der Abstoßung des Transplantates,

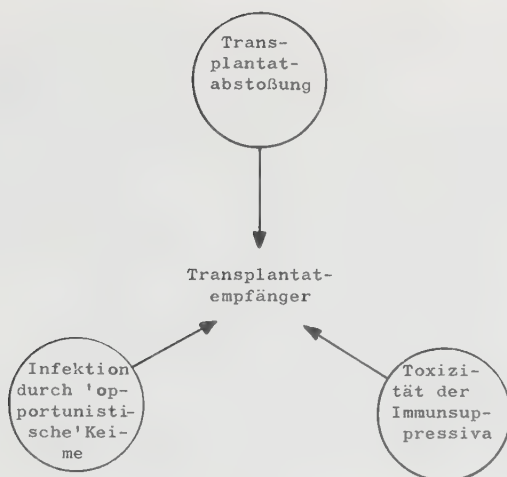


Abb. 1 Die "Balance des Überlebens"

der Infektion durch opportunistische Keime und der Toxizität der verwendeten Immunsuppressiva. Sie sind die drei Pole, welche die Existenz dieses Patienten zu einem instabilen Gleichgewichtszustand machen. Manche Autoren bezeichnen diese Situation auch als die 'balance of survival' (105), d.h. daß ein Antiabstoßungsmedikament entweder stark genug ist, eine Transplantatabstoßung zu verhindern, dann aber den Organismus schädigt, oder aber eine ungenügende Wirkung entfaltet, was dann die Abstoßung des Transplantates zur Folge hat.

Die optimale Therapie der Abstoßungskrisen in der Transplantationschirurgie wäre die Entwicklung einer 'specific unresponsiveness', d.h. einer Immuntoleranz des Transplantatempfängers dem Transplantat gegenüber. Damit könnte die Abstoßung des fremden Gewebes vermieden werden, ohne gleichzeitig einen massiven Immundefekt des Patienten mit allen sich daraus ergebenden Konsequenzen in Kauf nehmen zu müssen. Selektive Reaktionsunfähigkeit oder spezifische Immuntoleranz den Histokompatibilitätsantigenen des Organspenders gegenüber wäre eine aktive Leistung des nicht ausgeschalteten Immunapparates. Erst damit wird die allogene Organtransplantation bei chronisch insuffizienten Organen die Behandlungsmethode der Wahl.

1.2. Problem- und Fragestellung dieses Experimentes

Ziel der experimentellen Transplantationsforschung ist es, solche spezifischen Methoden zur Unterdrückung der Abstoßungsreaktion zu erarbeiten. Während in der immunologischen Grundlagenforschung bereits eine Reihe spezifischer Suppressormechanismen bekannt ist, wie z.B. 'T-Suppressor-Zellen' oder 'anti-idiotypische Antikörper', ist ihre praktische Anwendung in der Klinik noch nicht durchführbar, da entsprechende Untersuchungen an klinikenahen Modellen noch ausstehen.

Analoge Versuchsanordnungen zur spezifischen Immunsuppression wurden bislang nur an ingezüchteten Nagern erstellt (3,7, 8,9,13,14,15,16,17,18,19,20,21,24,25,38,44,47,54,55,56,57,75, 90,91,93,104,107,141,147,148,149,150,154,159,162). In deren streng definierten Immunsystemen wurden zur Untersuchung der spezifischen Immunsuppression klassisch-immunologische in-vitro Assays benutzt.

In Hinblick auf die ungeheure Wichtigkeit dieser Thematik für die Organtransplantation am Menschen wurde ein in-vivo Versuchsmodell am nicht-ingezüchteten Großtier (Hund) entwickelt, um immunologische feed-back-Mechanismen im Rahmen einer Immunantwort gegen allogene Transplantationsantigene untersuchen zu können.

Die spezielle Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit ist in Tab. 1 wiedergegeben.

Tab. 1 Spezielle Aufgabenstellung	
1.	Erarbeitung eines in-vivo-Versuchsmodelles am Hund zur Untersuchung von feed-back-Mechanismen im Rahmen einer Immunantwort gegen allogene Transplantationsantigene.
2.	Beobachtung von Funktion und Überlebenszeit des allogenen Nierentransplantates.
3.	Nachweis einer immunologischen Aktivität der zweimal transplantierten Milz.

2. METHODIK

2.1. Die Versuchsanordnung

Ein Experiment umfaßte jeweils zwei Operationen. Der zeitliche Abstand zwischen diesen beiden Operationen wurde in 3 Versuchsgruppen auf 2,3 oder 4 Tage festgelegt. Immunsuppressive Medikamente wurden nicht appliziert. Zur Versuchsanordnung im einzelnen:

- 1.Operation: Allogene Milztransplantation vom potentiellen Empfängerhund (im folgenden: Hund A) auf den potentiellen Spenderhund (im weiteren: Hund B). Abb. 2 zeigt das Programm der 1.Operation. Die genaue Beschreibung der Operationen bleibt einem späteren Kapitel vorbehalten (Kap. 2.7.).
- 2.Operation: Autologe Rücktransplantation der Milz von Hund B auf das eigentliche Empfängertier (Hund A) nach 2 bis 4 Tagen, verbunden mit gleichzeitiger allogener Nierentransplantation von Hund B nach Hund A (Abb. 3).

Folgende Zielsetzungen liegen dieser Versuchsanordnung zugrunde:

1. Versuch der Induktion einer Suppressor-T-Zellaktivität: Die anlaufende Immunantwort gegen die introduzierten DLA-Antigene von Hund B (allogenes Nierentransplantat) erfolgt unter dem Einfluß von immunen T/B-Zellen aus der rücktransplantierten Milz innerhalb des nicht-immunen lymphatischen Systems von Hund A.
2. Versuch zur Induktion einer auto-anti-idiotypischen Immunität: In der rücktransplantierten Milz sind immune T/B-Zellen mit DLA-bindenden Rezeptoren (sog. Idiotypen) in hoher lokaler Konzentration vorhanden. Diese relativ hohe lokale Dichte an antigen-wirkenden idiotypischen Rezeptoren ist die Voraussetzung für die Ausbildung von auto-anti-idiotypischen Antikörpern.

Sollten diese beiden Mechanismen in der Lage sein, in Hund A eine spezifische "unresponsiveness" gegen das allogene Nierentransplantat zu erzeugen, müßte es, verglichen mit Kontrollgruppen, zu einer Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit der allogenen Niere kommen.

2.2. Die Versuchstiere

Verwendet wurden Hunde mit einem Gewicht zwischen 18,5 kg und 50,0 kg (Durchschnittsgewicht: 32,1 kg) als potentielle Empfängerhunde (Hund A). Die Körpergewichte der potentiellen Spenderhunde (Hund B) lagen zwischen 16,0 kg und 40,0 kg (Durchschnittsgewicht: 25,9 kg). Bei der Aufstellung eines Spender-Empfänger-Paares wurde der schwerere und größere Hund einheitlich stets als Hund A, der leichtere und kleinere Hund immer als Hund B eingeteilt.

Bei 29 Versuchen und den dabei verwendeten 58 Hunden waren 36 männlichen und 22 weiblichen Geschlechtes. Es kamen etwa

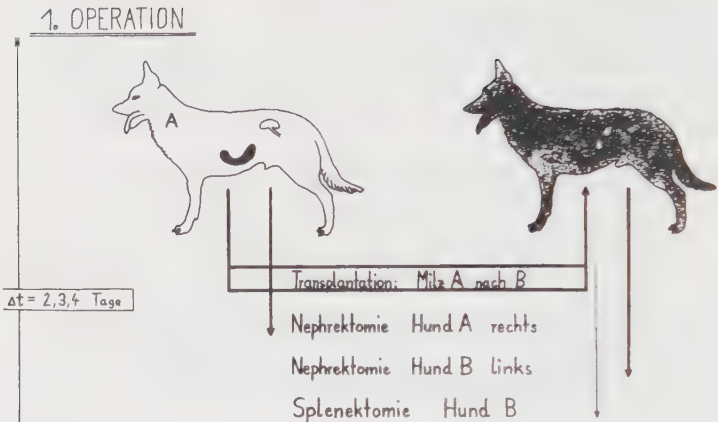


Abb. 2 Schema der '1. Operation'

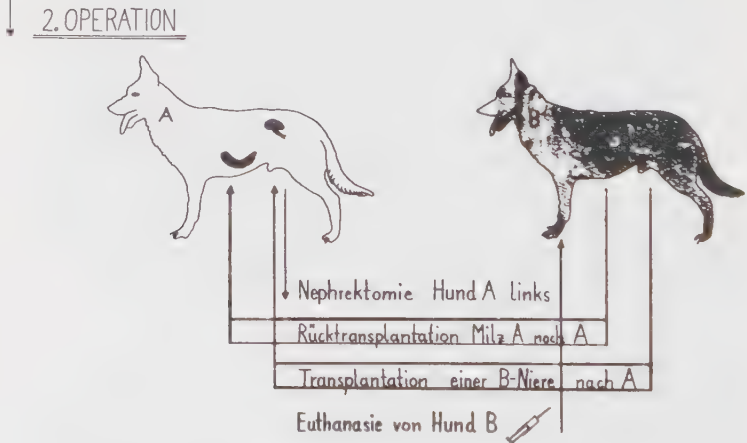


Abb. 3 Schema der '2. Operation'

ebensoviele männliche wie weibliche Tiere als Hund A zum Einsatz; in gleicher Weise die Geschlechtsverteilung bezüglich Hund B.

Die 58 Hunde entstammten den unterschiedlichsten Rassen und Mischungen, wurden zufallsmäßig nach Nummern ausgewählt (abgesehen von der oben erwähnten Gewichtszuordnung) und waren nicht verwandt.

Die Tiere variierten im Alter zwischen 2 und 4 Jahren.¹⁾

Die Hunde wurden von Haut- und Fellparasiten gesäubert¹⁾, entwurmt²⁾ und gegen Leptospirose, Staupe und Hundehepatitis geimpft³⁾. An mehreren Tagen wurde ihnen Blut abgenommen und Urinproben gesammelt, um für weitere spätere Untersuchungen über Ausgangswerte zu verfügen. Bestimmt wurden: Leukozyten-, Thrombozyten- und Erythrozytenzahl, Hämatokrit, Serum-Kreatinin und Serum-Harnstoff. Aufgestellt wurden Urinstatus und Differentialblutbild.

Die Versuchshunde wurden unter sauberen Bedingungen gehalten und konnten nach Belieben essen und trinken (Ausnahme: Hund A mußte nach der 1.Operation für 1-2 Tage nüchtern bleiben).

2.3. Die Versuchsreihen

Die 29 durchgeführten Versuche wurden in drei etwa gleich große Gruppen aufgeteilt, die sich nur im zeitlichen Abstand zwischen der ersten und der zweiten Operation unterschieden. In der ersten Versuchsgruppe wurde der Abstand zwischen beiden Operationen auf 2, in der zweiten Gruppe auf 3 und in der dritten Gruppe auf 4 Tage festgelegt. Dabei wurden die einzelnen Versuche einer Gruppe nicht 'en bloc' nacheinander durchgeführt, sondern stets abwechselnd aus jeder der 3 Gruppen ein Versuch. Es sollte so verhindert werden, daß eine Verbesserung der Operationstechnik und eine Weiterentwicklung der prae- und postoperativen Behandlung der Versuchstiere im Laufe dieser Experimente das Ergebnis bezüglich der drei Versuchsgruppen untereinander in unzulässiger Weise beeinflusste.

Die 29 durchgeführten Versuche unterschieden sich auch bezüglich einer weiteren 'Dimension'. In 15 Experimenten nahmen wir vor der 1.Operation eine Immunisierung der Tiere gegen Pferde- oder Schaferythrozyten vor, während bei 14 Versuchen keine Immunisierung erfolgte.

Tab. 2 Die Versuchsreihen			
Zeitlicher Abstand zwischen beiden Operationen	Anzahl der Versuche	davon mit Immunisg.	davon ohne Immunisg.
2 Tage	10	5	5
3 Tage	9	5	4
4 Tage	10	5	5

1) Alugan[®], Höchst AG, Frankfurt/Main.

2) Telmin[®] KH Janssen, Breitband-Anthelminthikum für Hunde, Janssen Pharmaceutica GmbH, Düsseldorf.

3) Candur[®] SHL, i.m., Staupe-Hepatitis-Leptospirose-Vaccine für Hunde, Behring-Werke AG, Marburg/Lahn.

2.4. Vorbereitung der Hunde auf die Operation

Alle Hunde wurden mindestens 12 Stunden vor Operationsbeginn nüchtern gehalten. Mit einem elektrischen Rasiergerät wurde das gesamte Abdomen als Operationsgebiet mit weitem Sicherheitsbereich, nach oben bis zur Mitte des Sternums, seitlich bis zu den Flanken und nach caudal bis über die Leistenbeuge enthaart. Wies einer der Hunde einen sehr dichten Haarwuchs auf, so wurde anschließend noch eine kosmetische Enthaarungscreme appliziert.

Eine halbe Stunde vor Einleitung der Narkose wurden die Versuchstiere mit Atropinsulfat¹⁾ als Vagolytikum praemediziert. An einer Tachykardie und einer deutlichen Pupillenerweiterung konnte der Eintritt der Parasympathikolyse meist schon 30 Minuten nach der Injektion festgestellt werden.

In Ausnahmefällen wurde sehr ängstlichen und nervösen Versuchstieren ein Neuroplegikum²⁾ verabreicht. Dadurch wurde ein spasmolytischer Effekt und eine potenzierte Analgetika-Wirkung erreicht.

Nach Einleitung der Narkose (Kap. 2.5.) wurden die Hunde in Rückenlage mit leichter Neigung auf die rechte Seite (leichteres Hantieren an der Milz, wenn der Abdominalinhalt nach rechts zurücksinkt) auf den Operationstisch gelegt und befestigt. Um ein zu starkes Auskühlen der Tiere während der langen Operationen zu verhindern, konnte der Operationstisch auf Körpertemperatur aufgeheizt werden.

Der Bauch der Hunde wurde nun zuerst dreimal mit Seife gut eingeschäumt und gründlich gewaschen. Danach erfolgte eine Grobdesinfektion der Haut durch Abreiben mit Äther und Benzin und zuletzt die Feindesinfektion³⁾. Nach Eintrocknen des flüssigen Hautdesinfektionsmittels wurden die Versuchstiere für die Operation abgedeckt.

2.5. Narkose der Versuchstiere

Im Laufe der Arbeit wurde die Narkosetechnik dreimal geändert. Die Tabellen 3 und 4 schlüsseln die bei den Experimenten zum Einsatz gekommenen Narkoseformen und die Narkose-Einleitungen zahlenmäßig auf.

Tab. 3 Narkose-Einleitung				
	Pentobarbital-Na	Methohexital-Na	Neuroplegikum + Analgetikum	Σ
1.OP/Hund A	5	11	13	29
1.OP/Hund B	14	2	13	29
2.OP/Hund A	6	5	6	17
2.OP/Hund B	17	0	0	17
Σ	42	18	32	92

1) Atropinsulfat Drobenal[®], 0,5mg i.m., Drobenal GmbH, Berlin.

2) Atosil[®], Bayer AG, Leverkusen. (2 Fälle)

3) Kodan[®]-Tinktur, S & M GmbH, Norderstedt.

Tab. 4 Narkose			
	Pentobarbital-Na	Halothan: N ₂ O-O ₂	Σ
1.OP/Hund A	5	24	29
1.OP/Hund B	14	15	29
2.OP/Hund A	6	11	17
2.OP/Hund B*	17	0	17
Σ	42	50	92

*) anschließend Euthanasie

Zuerst wendeten wir eine reine Barbituratnarkose mit Pentobarbital-Natrium¹⁾ an. Diese Mononarkose war relativ schnell durchzuführen und erforderte nicht eine permanente Überwachung des Hundes während der ganzen Operation. Das Barbiturat wurde intravenös in einer Dosierung von 25mg/kg Körpergewicht appliziert, davon etwa 2/3 schnell zur Unterdrückung des Exzitationsstadiums und nach 30-60 Sekunden in fraktionierten Dosen über 4-5 Minuten der Rest. Bei Aussetzen der Spontanatmung wurden die Tiere manuell beatmet, später auf dem Operationstisch erfolgte maschinelle Beatmung mittels einer Starling-Pumpe. Bei nicht ausreichender Muskelrelaxation gaben wir zusätzlich bis zu 20mg Diazepam²⁾. Die lange Dauer der operativen Eingriffe machte es notwendig, dreimal und mehr im Laufe eines Eingriffes jeweils ca. 150mg des Barbiturates nachzudosieren.

Später wurden Kombinationsnarkosen mit Injektion und Inhalation durchgeführt. Dabei erfolgte die Einleitung der Inhalationsnarkose (Lachgas-Sauerstoff-Halothan) durch ein Ultraschnarkotikum (Methohexital-Natrium³⁾), in einer Dosis von 50-120mg. Danach wurde dem Gasgemisch für die Beatmung 4 Minuten lang 4% Halothan zugesetzt, später konnte die Konzentration auf 1,0-1,2 Vol.% gesenkt werden.

Als optimalstes Narkoseverfahren für die Hunde erwies sich die zuletzt ausschließlich praktizierte Einleitung der Halothannarkose durch eine Neuroplegika/Analgetika-Kombination. Als sedatives und vegetativ dämpfendes Neuroplegikum wurde Propionyl-Promazin⁴⁾ verwendet, welches außerdem die analgetische Wirkung des anschließend verabreichten Methadons verstärkte. Dieses wurde 20 Minuten nach der Propionyl-Promazingabe appliziert (0,3ml/kg Körpergewicht, i.m.). Hierdurch wurde ein analgetischer Dämmer Schlaf erreicht, der eine problemlose Intubation der Tiere ermöglichte.

Zur Intubation der Hunde wurde ein Maulsperrer angesetzt, mit einer Zungenzange die Zunge aus der Mundhöhle gezogen und der Hals überstreckt. Wegen der länglichen Hundeköpfe wurde vom Mundwinkel der Tiere aus mit einem geraden Larynx-Spatel

1) Nembutal®, Abbott AG, Zug.

2) Valium Roche®, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen.

3) Brevimytal®-Natrium, Ely Lilly GmbH, Lahn-Giessen.

4) Combelen®, Bayer AG, Leverkusen, 0,035ml (± 0,35mg)/kg Körpergewicht.

die plica vocalis sichtbar gemacht und ein Gummi-Endotrachealkatheter ohne Mandrin eingeführt. Wir verwendeten Orotrachealtubus mit aufblasbarer Manschette und Pilotballon am oralen Ende des Schlauches (zur Kontrolle der Blähung der Manschette im Ösophagus) in den Größen 10, 12, 14 und den Längen 30, 36 und 42cm¹⁾.

Um für den gesamten Operationszeitraum einen venösen Zugang zur Verfügung zu haben, wurde die V.cephalica antibrachii im distalen Drittel einer rasierten vorderen Extremität mit einer Flügelkanüle²⁾ punktiert.

Die Einleitung der Inhalationsnarkose erfolgte auch hier durch eine 2-3minütige Beatmung der Tiere mit 3-4 Vol.% Halothan³⁾ im Lachgas-Sauerstoffgemisch. Diese analgetisch wirkende, stark sedative und vegetativ dämpfende Kombinationsnarkose erlaubte bei diesen lange dauernden Operationen zur Narkoseaufrechterhaltung eine Reduktion der Halothankonzentration auf 0,6-0,8 Vol.%.

Die Beatmung erfolgte durch einen Narkoseapparat mit teilweiser Rückatmung (halbgeschlossenes System). Als Trägergas verwendeten wir ein Lachgas-Sauerstoffgemisch im Verhältnis 1:1. Das durch den Apparat vorgegebene Atemminutenvolumen variierte zwischen 5 und 6 Liter Gasgemisch/Minute. Die Atemfrequenz wurde auf 15 Atemzüge/Minute eingestellt.

Die Herz-Kreislauffunktion wurde während der ganzen Operation mittels subkutaner Nadelelektroden für ein Elektrokardiogramm (Extremitätenableitung) auf einem Monitor überwacht. Als Anhaltspunkte für die Tiefe der Narkose im Überwachungszeitraum dienten ein zurückgefallener oder nach caudal rotierter Bulbus, sowie der Ausfall von Corneal- und palatomaxillärem Reflex. Bei der Neuroleptanalgesie bleiben die Hunde jedoch anfangs weckbar und sind gegen laute und hell klingende Geräusche empfindlich.

Bei Operationsende wurde die Halothangabe eingestellt und die Hunde wurden bis zum Wiedereintritt der Spontanatmung mit Raumluft weiterbeatmet. Die Aufwachphase der Tiere war komplikationslos und betrug ca. 30 Minuten, ein ruhiger 2-stündiger Nachschlaf folgte. Zudecken während der Nachschlafphase verhinderte eine zu starke Auskühlung, in einigen Fällen erfolgte auch Wärmezufuhr mittels eines Infrarotstrahlers. 5 bis 6 Stunden post operationem wurden bei Bedarf Analgetika⁴⁾ verabreicht.

1) Rüsch[®]

2) Venofix[®] Perfusionsbesteck, 1,1-G19 Luer, B.Braun-Melsungen AG, Melsungen.

3) Fluothane[®], ICI-Pharma, Plankstadt.

4) Fortral[®], Winthrop GmbH, Neu-Isenburg. 1mg/10kg Körpergewicht alle 4-6 Stunden.

2.6. Verwendetes Nahtmaterial und chirurgisches Instrumentarium

Alle operativen Eingriffe wurden unter sterilen Kautelen und aseptischer Technik durchgeführt. Es kam das an anderer Stelle beschriebene, in der Bauch- und Gefäßchirurgie übliche Instrumentarium zum Einsatz (60, S.9-12).

Nahtmaterial:

- für die arteriellen und venösen Gefäßanastomosen (Milz, Niere): Prolene® 6-0, (Ethicon, EH 7474).
- Ureterimplantation in die Blase: Vicryl® 3-0, resorbierbar (Ethicon V 311).
- Gefäßunterbindungen: Sutupak® Leinenzwirn (Ethicon, EH 6635 D) oder Mersilene® Sutupak 2-0 (Ethicon, EH 6664 H).
- Haltefäden für die Blase zur Ureteranastomose: Teflex® Grün, DS 20 (Pfrimmer).
- Halteband zur Darstellung von Gefäßverläufen: Halteband Mersilene®, (Ethicon, EH 396 H).
- Unterbindung des Pankreas nach Caudaresektion: Mersilene® 2-0 (Ethicon).
- Bauchdeckennaht und Haltenaht: Supramid®, 4 EP, B.Braun-Dexon GmbH, Melsungen.

2.7. Chirurgisch-technisches Vorgehen bei den Versuchen

2.7.1. Die allogene Milztransplantation (1.Operation)

2.7.1.1. Operation am temporären Milzspender und potentiellen Nierenempfänger (Hund A)

Etwa 3 cm caudal des processus xiphoideus beginnend, wird die Bauchdecke ca. 20-25 cm lang in der Medianlinie eröffnet und, um die dicht darunter liegende Milz nicht zu verletzen, das peritoneum parietale vorsichtig gespalten. Nach Einlegen zweier feuchter Bauchtücher an die rechte und linke Peritonealwand wird ein anatomischer Bauchdeckenhalter (nach Fritsch) eingesetzt. Der Magen wird mit einer angebrachten Allis-Klemme unter sanftem Zug nach cranial gezogen, um die Gefäße entlang der großen Kurvatur gut sichtbar werden zu lassen.

Präparation der Milzgefäße und Explantation der Milz (Abb. 4):
Die Milz wird unter leichtem Zug nach caudal aus der Bauchhöhle herausgehoben, um - unter Spannung - die Gefäßversorgung der Milz im hilus lienis besser darstellen zu können. Abschnittsweise werden nun jeweils 2-3 kleinere Gefäße im ligamentum gastrolienale (zur großen Kurvatur des Magens hin) und im ligamentum phrenicolienale (zum Zwerchfell hin) freipräpariert, durchtrennt und unterbunden. Durch diese Spaltung der ligg. gastrolienale und phrenicolienale wird die Milz von allen arteriellen und venösen Nebenschlüssen abgetrennt, so daß eine Ver- und Entsorgung des Organes nur noch über die Hauptäste von A. und V.lienialis bestehen bleibt. Entlang der großen Magenkurvatur müssen die Vasa gastrica brevia einzeln und nicht zu nahe an der Magenwand ligiert werden, ohne diese jedoch mitzuerschneiden (Nekrosegefahr!). Auch die kleineren Gefäße im Milzhilus

dürfen nicht zu milznah unterbunden werden, um eine lokale Unterbrechung der Blutversorgung zu verhindern. Dann werden möglichst lange Gefäßstiele von A. und V. lienalis nach proximal freipräpariert, wobei Abzweigungen aus der A. lienalis zum Pankreas ligiert werden müssen. Diese Manipulation an der Gefäßversorgung der cauda pancreatis erfordert im Anschluß an die Milzexplantation eine Resektion des bis dahin schon deutlich in der Farbe demarkierten Pankreasgewebes und eine intra- und postoperative Verabreichung eines Proteinasen-Inhibitors¹⁾. Etwa 2cm distal des truncus coeliacus und der V. porta werden A. und V. lienalis mit einer Schere abgetrennt, beide Gefäße milzwärts mit Bulldoggen abgeklemmt und die im Situs verbleibenden Gefäßstümpfe unterbunden. Damit beginnt die Ischämiezeit der Milz. Abb. 5 zeigt eine frisch explantierte Milz.

Perfusion der explantierten Milz (Abb. 6 und 7):

Die A. lienalis der explantierten Milz wird mit zwei kleinen anatomischen Klemmen aufgespannt, eine Knopfkanüle in das Gefäß eingeführt und die Milz mittels einer Perfusor-Spritze mit 200ml Kochsalz-Heparin-Gemisch (100 : 1)²⁾ perfundiert. Dann wird bei abgeklemmter Arterie das Perfusat durch sanftes Drücken der Milz über die Milzvene in ein Auffanggefäß exprimiert (Abb. 8). Anschließend wird die explantierte Milz in feuchten sterilen Tüchern bei Zimmertemperatur (T = 22°C) bis zur Implantation aufbewahrt. Auch die Kochsalz-Heparin-Lösung muß vor der Perfusion auf Zimmertemperatur gebracht werden.

Resektion der Cauda pancreatis:

Der Zugang zur cauda pancreatis ist möglich, weil das lig. gastrolienale bereits bei der Milzexplantation durchtrennt wurde. Die Vorderfläche des Pankreas ist vom Peritoneum überzogen, die Hinterfläche ist sekundär mit der hinteren Bauchwand verwachsen. Nach Durchtrennung des Peritoneums läßt sich die Bauchspeicheldrüse leicht vom retroperitonealen Bindegewebe lösen. Der ischämisch geschädigte und farblich demarkierte Pankreaschwanz wird im Gesunden reseziert, um einer postoperativen Pankreatitis vorzubeugen.

Nephrektomie rechts (Abb. 9):

Um die Dauer der 2.Operation in 2,3 oder 4 Tagen zu verkürzen, (4 Gefäßanastomosen und 1 Ureterimplantation an Hund A in der 2.Operation), wird die Entfernung der rechten Niere von Hund A auf die 1.Operation vorverlegt.

Die rechte Niere wird im Retroperitonealraum dargestellt und das Peritoneum nach Elektrokoagulation darin verlaufender Gefäße mit einer Präparierschere durchtrennt. Nach Freipräparieren von A. und V. renales dextrae (Abb. 10) werden beide Gefäße abgeklemmt, durchtrennt und die in situ verbleibenden Gefäßstümpfe von Arterie und Vene mehrmals mit kräftigen Ligaturen unterbunden. Auch der Ureter wird an einer sich anbietenden Stelle abgeklemmt, durchtrennt und unterbunden. Das Organ wird entnommen und verworfen.

Nach Entfernung von Bauchdeckenhalter und Bauchtüchern wird das Abdomen durch zwei fortlaufende Nähte verschlossen (1.Naht Peritoneum, Faszia, Muskulatur; 2.Naht: Haut).

1) Trasylol®, Bayer AG, Leverkusen.

2) Thrombophob®, Nordmark-Werke GmbH, Hamburg (2ml=10.000 USP Heparin).

1. OPERATION

HUND A

SPLENEKTOMIE (MILZEXPLANTATION)

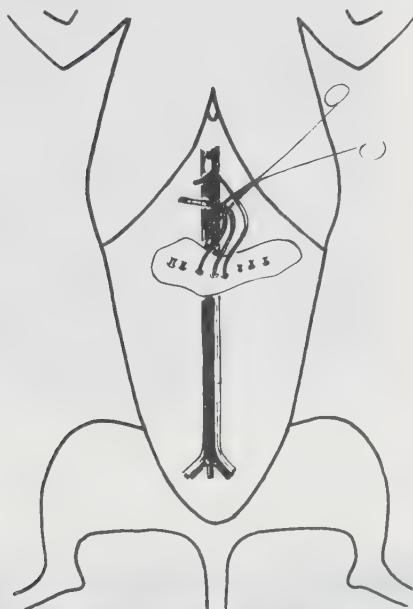


Abb. 4
Schema der Milz-
explantation

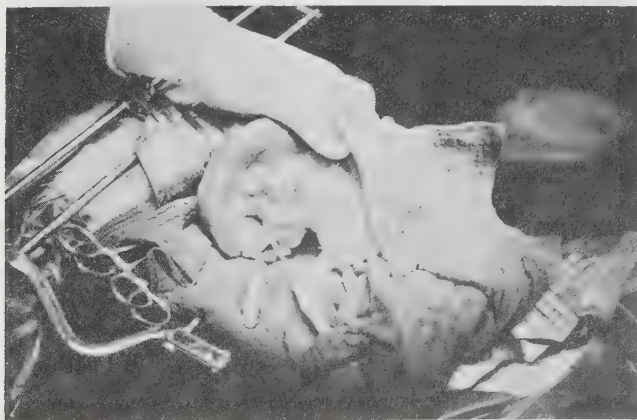


Abb. 5 Explantierte Milz

PERFUSION DER EXPLANTIERTEN
MILZ MIT 200 ML KOCHSALZ -
HEPARIN (100:1)

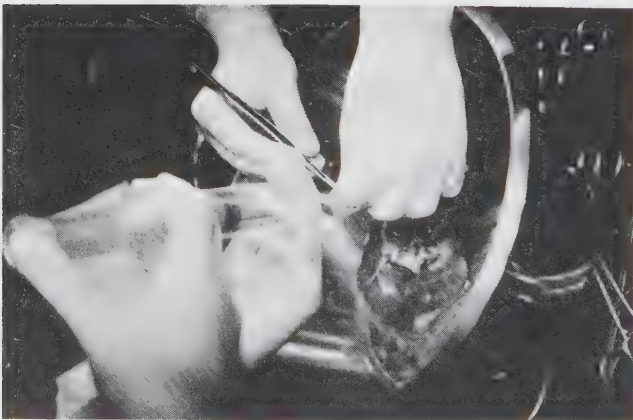


Abb. 6 und Abb. 7
Perfusion der ex-
plantierten Milz



Abb. 8 Die explantierte Milz wird blutleer gedrückt

NEPHREKTOMIE RECHTS

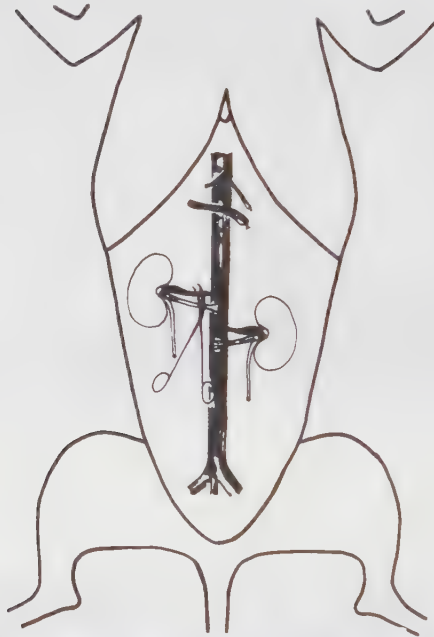


Abb. 9
Nephrektomie



Abb. 10 Präparation der Nierengefäße

2.7.1.2. Operation am temporären Milzempfänger und späteren potentiellen Nierenspender (Hund B)

Das Abdomen wird wie bei Hund A eröffnet. Nach caudal wird der Schnitt schräg lateral in die linke Inguinalgegend weitergeführt, um einen Zugang zur A.iliaca externa sinistra herzustellen. Die Bauchdeckenmuskulatur wird in der linea alba mit dem Elektromesser gespalten.

Splenektomie und Nephrektomie links (Abb. 11):

Vor Implantation der allogenen Milz von Hund A wird an Hund B aus Platzgründen eine Splenektomie durchgeführt. Die entnommene Milz wird zu immunologischen Versuchszwecken asserviert. Im Gegensatz zur Milzexplantation an Hund A wird hier bei der Splenektomie die A.lienalis möglichst weit distal vom truncus coeliacus und nahe an der Milz ligiert. Deshalb unterbleibt an Hund B eine Perfusionsstörung der Cauda pancreatis. Die Exstirpation der linken Niere erfolgt mit dem Ziel, einen geeigneten arteriellen und venösen Anschluß für End-zu-End-Anastomosen mit A. und V.lienales der heterotop zu implantierenden Milz von Hund A zu schaffen. Dazu wird die Niere aus dem linken Nierenlager freipräpariert und der Gefäßstiel möglichst weit distal abgesetzt. Der Ureter wird an einer sich anbietenden Stelle durchtrennt und unterbunden. Die in situ verbleibenden Gefäßstümpfe von A. und V.renales sin. werden ca. 1-2 cm distal ihrer Mündungen in Aorta bzw. V.cava caud. mit Bulldoggen abgeklemmt und mit einigen Millilitern Kochsalz-Heparin-Lösung (100:1)¹⁾ ausgespült.

Excision eines Gefäßstückes aus der A.iliaca ext.sin.:

Das hier zu entfernende arterielle Gefäßstück findet in entsprechend vorbereitetem Zustand anschließend als arterielles Interponat bei der Anastomose zwischen V.renalis sin. und V.lienalis seine Verwendung als Patch-Stück. Etwa 3 cm distal der bifurcatio aortae wird aus der A.iliaca ext.sin. ein Stück freipräpariert, mit einem Overhold umfahren und mit einer Satinsky-Klemme ausgeklemmt. Ein ca. 1 cm langes Gefäßstück wird entnommen und die beiden Gefäßstümpfe in situ ligiert. Das gewonnene arterielle Rohr wird durch Spreizung mit einem Gefäßklemmchen in seinem Lumen erweitert und anschließend bis zur weiteren Verwendung in Kochsalz-Heparin-Lösung aufbewahrt.

Heterotope Allotransplantation der Milz von Hund A in Hund B:

Zuerst wird die venöse Anastomose zwischen V.renalis sin. von Hund B und V.lienalis des Implantates angelegt. Dazu wird aus dem vorher gewonnenen arteriellen Gefäßstück ein ovalförmiges Patch geschnitten und dann in die venöse Anastomose eingenäht, um die Durchgängigkeit zu sichern. Das genaue Vorgehen bei der Erstellung dieser Anastomose wird in Kap. 2.7.3. genau erläutert.

Die arterielle Anastomose wird ohne vorherige Anbringung von Haltefäden fortlaufend mit dünnem Fadenmaterial angefertigt. Ein ggf. nötiger Angleich der Querschnitte beider Gefäße erfolgt entweder durch Ausweiten des Gefäßlumens der kleineren

¹⁾ Thrombophob® , Nordmark-Werke GmbH, Hamburg.

Arterie mit einem Mosquito-Klemmchen oder durch Anschrüngen des Querschnittes mit einer Präparierschere. Nach Fertigstellung dieser Anastomose werden alle Bulldogg-Klemmen entfernt und die Zeit notiert: Ende der Ischämiezeit der Milz. Die bis dahin bläulich-livide Farbe der Milz schlägt nach Wiedereinsetzen der Perfusion rasch in einen hellen rosaroten Farbton um. Neben dieser sichtbaren reaktiven Hyperämie können an der arteriellen Anastomose und distal davon deutliche Pulsationen getastet werden. Spätestens nach 3 Minuten war eine erfolgreich transplantierte Milz sichtbar gut durchblutet (Abb. 12 und Abb. 13).

Mittlerweile wurden dem Hund 250ml eines hochmolekularen Plasmaexpanders¹⁾ zur Thromboseprophylaxe infundiert.

Die implantierte Milz wurde ohne Befestigungsnähte nur in die Peritonealhöhle gelegt. Das Abdomen von Hund B wurde mit zwei fortlaufenden Nähten verschlossen. Wegen der postoperativ einsetzenden low-dose-Heparinisierung wurde auf eine exakte Blutstillung geachtet.

1. OPERATION

HUND B

SPLENEKTOMIE + NEPHREKTOMIE LINKS

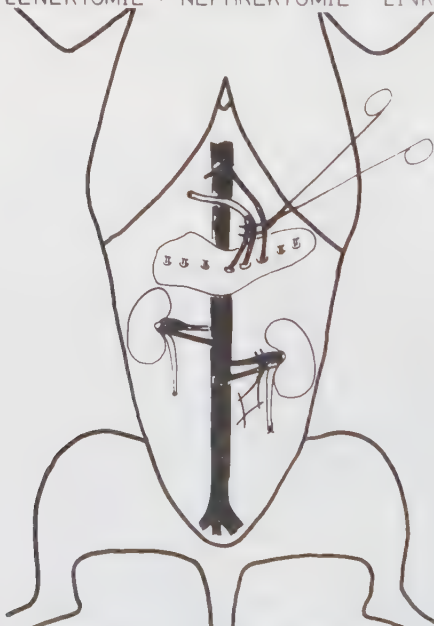


Abb. 11 Splenektomie und Nephrektomie links

¹⁾ Makrodex® 6%, Knoll AG, Ludwigshafen.

1. OPERATION
ALLOTRANSPLANTATION DER MILZ VON
HUND A

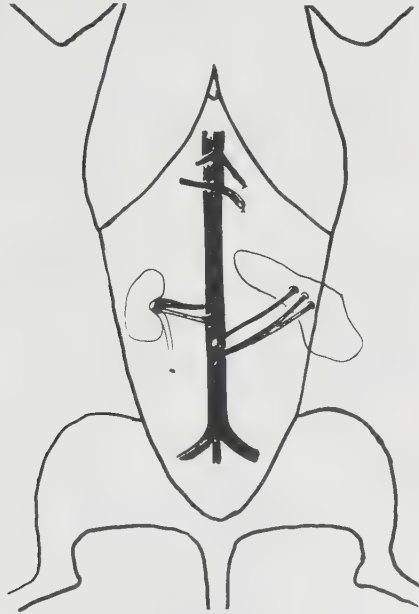


Abb. 12
Allotransplantation
der Milz



Abb. 13 Situs von Hund B mit transplantiertter Milz

2.7.2. Die autologe Milzrücktransplantation mit allogener Nierentransplantation (2.Operation)

2.7.2.1. Operation am Nierenspender (Hund B)

Das Abdomen des Hundes wird in der Nahtlinie der 2,3 oder 4 Tage zurückliegenden 1.Operation durch Entfernung des Leinenzwirnes eröffnet. Nach gründlicher Blutstillung durch Elektrokoagulation wird der Bauchdeckenhalter eingesetzt.

Zunächst wird die bei der 1.Operation implantierte Milz von Hund A freigelegt. Es folgt eine gründliche Inspektion und Palpation des allogenen transplantierten Organs, welches zu diesem Zeitpunkt 2,3 oder 4 Tage im fremden Organismus angeschlossen war. Nur bei makroskopisch guter Durchblutung der Milz wurde das Organ für transplantabel erachtet und das Experiment fortgesetzt. Ließ der Zustand der Milz Zweifel an der Brauchbarkeit des Organes für eine Rücktransplantation aufkommen, wurde der Versuch an dieser Stelle abgebrochen und das Tier eingeschlafert.

Explantation der Milz (Abb. 14):

Proximal der Gefäßanastomosen aus der 1.Operation werden A. und V. lienales abgesetzt und durchtrennt (Abb. 15). Die Milz wird aus dem Abdomen entnommen und wieder mit 200ml zimmerwarmen Kochsalz-Heparin-Gemisch ($T = 22^{\circ}\text{C}$) etwa 2 Minuten lang perfundiert (Abb. 16). Das Perfusat wird durch leichtes Drücken des Organes über die V. lienalis exprimiert. Anschließend wird die Milz in feuchte Tücher eingeschlagen und für die Implantation in Hund A aufbewahrt. Die Stümpfe der Nierengefäße werden mit kräftigen Ligaturen unterbunden.

Excision eines arteriellen Gefäßstückes aus der A. iliaca ext.
Erneut muß für die Milzvenenanastomose ein ca. 1cm langes Gefäßstück, diesmal aus der rechten A. iliaca ext., von Hund B gewonnen werden. Das technische Vorgehen entspricht dem in Kap. 2.7.1.2. geschilderten (Abb. 17, Abb. 18, Abb. 19).

Explantation der rechten Niere (Spenderniere) (Abb. 20):

Der rechte Retroperitonealraum wird dargestellt und eröffnet. Nach Elektrokoagulation darin verlaufender Gefäße wird die Nierenkapsel gespalten und die Niere freipräpariert. A. und V. renales dextrae werden dargestellt und mobilisiert. Zur Verkürzung der Ischämiezeit bleibt die Niere bis zur vollständigen Mobilisation an ihrer Gefäßversorgung angeschlossen. Dann werden die Nierengefäße so abgesetzt, daß viel Gefäßmaterial für die anzufertigenden Anastomosen gewonnen wird. Dazu wird die Niere mit einem Stück Aorta und V. cava caud. entnommen, der Ureter der Spenderniere wird möglichst caudal abgesetzt. Jetzt beginnt die warme Ischämiezeit der Niere. Das explantierte Organ muß möglichst schnell mit eiskalter Euro-Collins Lösung¹⁾ perfundiert werden (Abb. 21). Dazu werden 300-600 ml dieser Lösung ($T = 2-4^{\circ}\text{C}$) im Schuß mittels Schwerkraft ($p = 120 \text{ cm H}_2\text{O}$) durch die explantierte Niere perfundiert. Diese Perfusion soll "Sludge-Bildung" und Blutgerinnung verhindern, saure Metaboliten aus dem Organ entfernen, das Organ auf Hypo-

1) Fresenius KG, Bad Homburg.

thermie abkühlen und somit die Ischämieempfindlichkeit vermindern (39,89). Mit Ende der Perfusion geht die warme in die kalte Ischämiezeit über. Das explantierte Organ wird in feuchten Bauchtüchern eingeschlagen in einer Schüssel mit sterilem Kochsalz-Eis im Hypothermiezustand aufbewahrt.

Die 2.Operation am Spenderhund B wird mit dessen Euthanasie beendet. Hierzu werden dem splenektomierten und doppelseitig nephrektomierten Tier nacheinander zuerst 10ml Pentobarbital-Natrium¹⁾ und anschließend 20ml 1-molarer Kaliumchlorid-Lösung²⁾ intravenös verabreicht.

2. OPERATION

HUND B

EXPLANTATION DER MILZ VON HUND A + NEPHREKTOMIE RECHTS

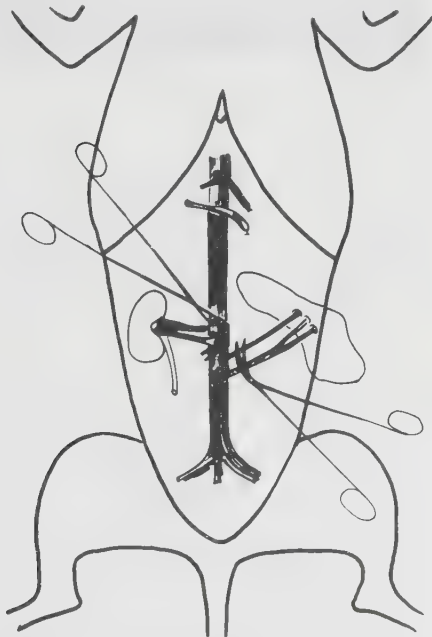


Abb. 14
Explantation der Milz und rechtsseitige
Nephrektomie.

1) Nembutal® , Abbott AG, Zug, CH.

2) 7,46% KCl-Lösung, Fresenius, Bad Homburg.

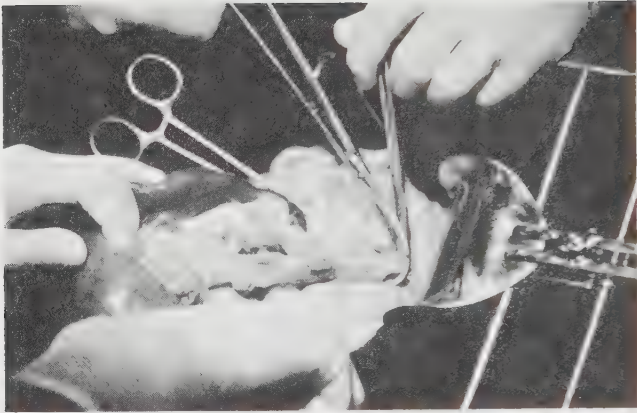


Abb. 15
Absetzen der allogenen Milz im Situs von Hund B

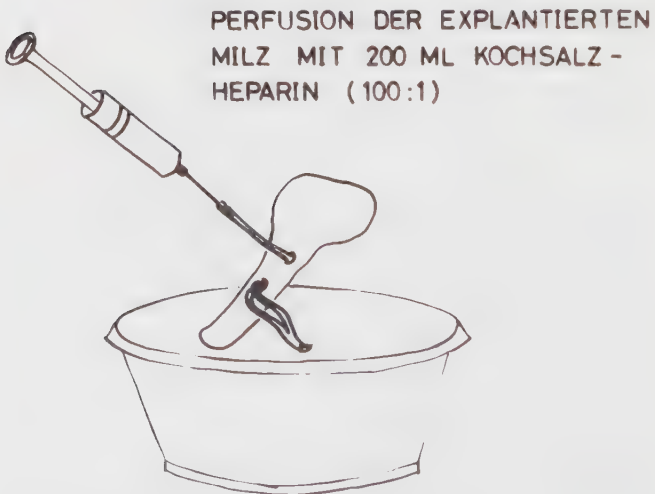


Abb. 16
Normotherme Perfusion der explantierten Milz

2. OPERATION HUND B
EXCISION VON 1-2 CM A.ILIACA COMM. ZUM
GEWINNUNG DES ANASTOMOSEN-PATCH

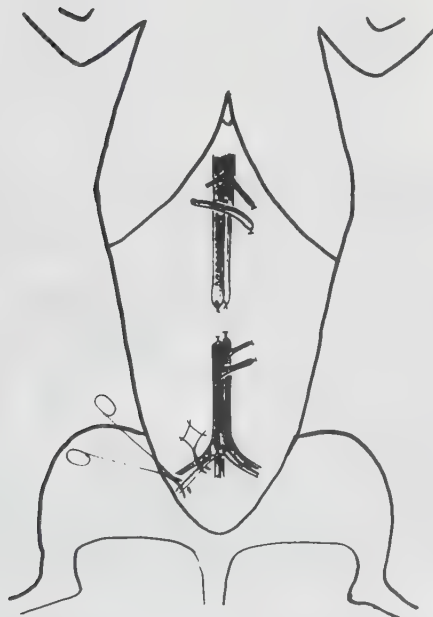


Abb. 17
Schema zur Excision eines Gefäßstückes
aus der A.iliaca



Abb. 18 und Abb. 19
Excision eines Gefäßstückes aus der A.iliaca zur Herstellung eines Patch für die Milzvenenanastomose



Abb. 20
Explantation der Spenderniere aus Hund B



Abb. 21
Perfusion der ex-
plantierten Niere
mit Euro-Collins-
Lösung

2.7.2.2. Operation am Milz- und Nierenempfänger (Hund A)

Eröffnung des Abdomens, Blutstillung und Einspannen des Bauchdeckenhalters erfolgen in gleicher Weise wie bei Hund B (2.7.2.1.).

Nephrektomie links (Abb. 22):

Hier dient die Nephrektomie einmal der Schaffung neuer Gefäßanschlüsse für die wieder zu implantierende autologe Milz und zum anderen zur späteren Funktionsüberprüfung der implantierten allogenen Niere, da Hund A nach diesem Operationsschritt doppelseitig nephrektomiert ist (2.7.1.1.).

Die linken Renalisgefäße werden möglichst weit distal ihrer Abgänge aus Aorta abdominalis und V. cava caud. und nahe an der Niere abgesetzt, um wiederum reichlich Anastomosenmaterial für die End-zu-End-Gefäßnähte mit der zu implantierenden Milz zur Verfügung zu haben. Nach Entnahme des Organs werden beide Renalisgefäßstümpfe mit ca. 5ml Kochsalz-Heparin-Lösung (1:100) ausgespült.

Heterotope Rücktransplantation der autologen Milz (Abb. 23):

Die zu implantierende Milz wird in die Bauchhöhle gelegt und zuerst die End-zu-End-Venenplastik zwischen V. lienalis und V. renalis sin. angefertigt. Anschließend werden A. lienalis des Implantates und A. renalis sin. End-zu-End anastomosiert. Nach Entfernung aller Bulldogg-Klemmen werden beide Anastomosen auf ihre Dichtigkeit hin überprüft. Nötigenfalls werden Blutungen mit Einzelnähten oder mit Gewebekleber¹⁾ zum Sistieren gebracht. Bei befriedigend einsetzender Perfusion des Organes schlägt die bläulich-livide Farbe zuerst fleckförmig disseminiert, dann über das ganze Organ sich ausbreitend, in einen hellen roten Farbton um (Abb. 24). Während dieser Milzimplantation werden Hund A etwa 250ml Dextran-Lösung²⁾ als intravenöse Infusion zur Thromboseprophylaxe (2) verabreicht.

Heterotope Implantation der allogenen Niere (Abb. 23):

Während der Implantation des Transplantates bis zum Wiedereinsetzen der Hämoperfusion (= Ende der kalten Ischämiezeit) muß die Niere mit eiskalten Kompressen und eisgekühlter Kochsalz-Lösung gekühlt werden.

Wie an anderer Stelle beschrieben, wird die allogene Niere intraperitoneal in die fossa iliaca implantiert (89). Dazu wird der schon bestehende Zugang zur Peritonealhöhle zu einer unteren medianen Laparotomie erweitert. A. und V. iliaca ext. werden freipräpariert und mobilisiert. Mit Satinski-Klemmen werden etwa 5 cm lange Abschnitte beider Gefäße ausgeklemmt und längs mit einem Stichskalpell eingeschnitten. Nach Ausspülung beider Gefäßabschnitte mit Kochsalz-Heparin-Lösung wird zuerst eine End-zu-Seit-Anastomose zwischen V. renalis und V. iliaca angefertigt. In Abb. 25 sind die einzelnen Schritte der Venen-Anastomosierung dargestellt: zunächst wird die Nierenvene in 2 Haltefäden bei unverdrehter Lage an zwei gegenüberliegenden Punkten an die V. iliaca fixiert (a); beide Haltenähte werden geknotet (b); nacheinander werden dann beide Seiten der Venen-

1) Histoacryl® blau, B. Braun Melsungen AG, Melsungen.

2) Makrodex® 6%, Knoll AG, Ludwigshafen.

2 OPERATION

NEPHREKTOMIE LINKS

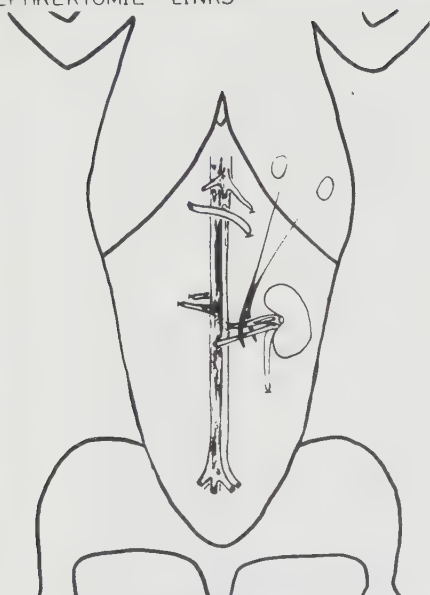


Abb. 22 Nephrektomie links

AUTOLOGE „RE“-TRANSPLANTATION DER MILZ ALLOTRANSPLANTATION EINER NIERE VON HUND B

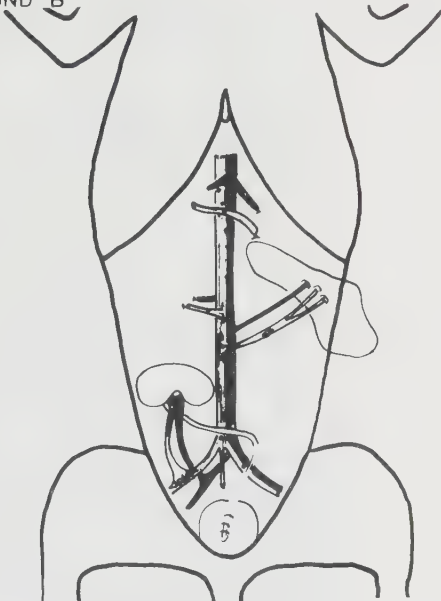


Abb. 23 Kombinierte Milz-Nieren-
transplantation



Abb. 24 Rücktransplantierte Milz im Situs von Hund A

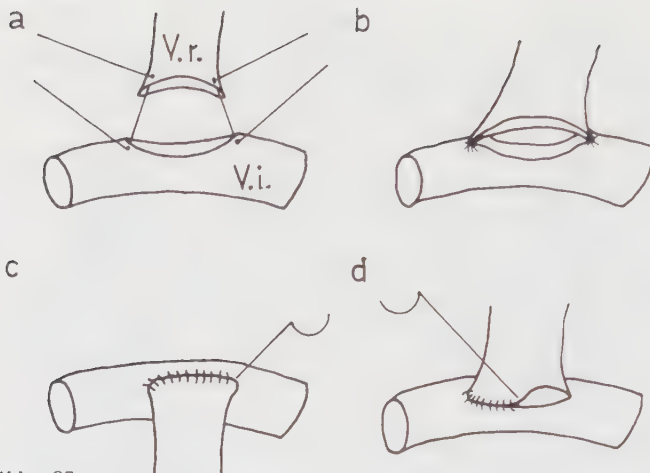


Abb. 25

End-zu-Seit-Anastomose zwischen V.iliaca ext. (V.i.) des Empfängers und V.renalis (V.r.) des allogenen Transplantates. Einzelheiten im Text unten.

anastomose fortlaufend genäht, wobei die Niere einmal links, dann rechts von der Iliaca-vene plaziert wird (c,d).

Der Aortenpatch an der Spenderniere wird auf geeignete Form und Größe zugeschnitten und die A.renalis End-zu-Seit in die A.iliaca ext. eingenaht.

Implantation des Ureters in die Blase nach der Klöppel-Technik: Um die Blase fixieren und spannen zu können, werden an der Hinterwand der Blase im Abstand von 1-2cm an gegenüberliegenden Stellen Haltefäden angebracht. Zwischen diesen Haltenähten wird die Blasenwand Schicht für Schicht mit dem Elektromesser eröffnet. Die freipräparierte Mucosa der Blaseninnenwand wird mit einem Skalpell durchschnitten und der dabei austretende Urin abgesaugt. Der Ureter der zu implantierenden Niere wird in der üblichen Klöppeltechnik in die Blase eingenaht und diese wieder schichtweise verschlossen. Zusätzlich wird am Ureter eine Anti-Reflex-Plastik angelegt.

Mittlerweile werdem dem Tier 100mg Furosemid¹⁾ i.v. verabreicht. Durch zwei Reihen von Einzelnähten wird das Abdomen des Tieres verschlossen.

Ergänzend muß noch bemerkt werden, daß die 2.Operation an Hund A und Hund B nicht nacheinander ausgeführt wird, sondern mit einer bestimmten zeitlichen Versetzung so, daß die Ischämiezeiten für die zu transplantierenden Organe Milz und Niere möglichst kurz gehalten werden.

1) Lasix®, Hoechst AG, Frankfurt/Main.

2.7.3. Venenplastik für die Milzvenenanastomose

Die End-zu-End-Anastomosen zwischen V.lienalis und V.renalis sin. wurden in noch nicht bekannter Technik durchgeführt und werden im folgenden schrittweise an Hand von Abb. 26 erläutert:

Die Adventitia beider zu anastomosierender Gefäße wird von Bindegewebe freipräpariert. Das Lumen dieser Gefäße wird verglichen und ggf. wird der Querschnitt des kleineren von beiden durch Spreizung mit einem Mosquitoklemmchen vergrößert. Bei großen Differenzen zwischen den Querschnittsflächen beider Gefäße erfolgt eine Angleichung dieser durch Anschragen des Endes des kleineren Gefäßes mit einer Präparierschere (a).

V.renalis sin. und V.lienalis werden an gegenüberliegender Stelle bei nicht verdrehter Lage beider Gefäße eingekerbt. Durch diese Einkerbung wird die kommunizierende Querschnittsfläche beider Gefäße vergrößert und es entsteht die durch das arterielle Patch später aufzuspannende Venenraute (b).

Links und rechts von diesen Einkerbungen werden zwei Haltefäden angebracht (c), die beiden Venen werden mit zwei Pinzetten zusammengeführt und -gehalten und beide Haltenähte werden nachgezogen und einzeln mehrmals verknotet (d).

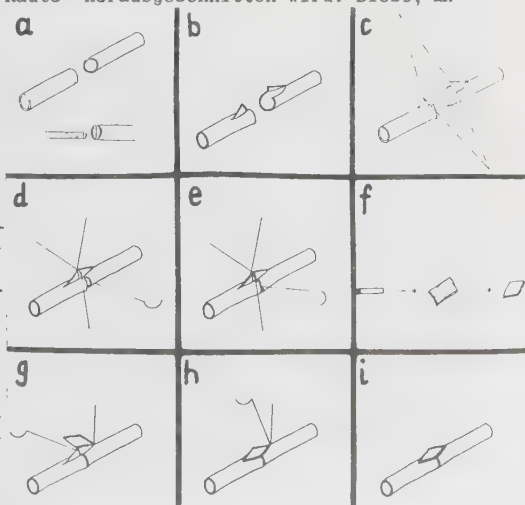
Mit einem der vier Enden der Haltenähte wird nun in fortlaufender Naht der Halbkreis der venösen Anastomose unterhalb des eingeschnittenen Rautenstückes vernäht (e). Zur Erleichterung können dazu die beiden verknüpften Venen mit Hilfe der Haltefäden in ihrer Verbindungsachse um 180 Grad gedreht werden. Es ist von großer Wichtigkeit, für die Gefäßnaht sehr feines Nahtmaterial zu verwenden, um eine Verengung des Gefäßlumens an der Anastomosenstelle zu vermeiden.

Im nächsten Arbeitsgang wird das Patch zurechtgeschnitten. Das Gefäßstück aus der A.iliaca externa von Hund B wird in der Längsachse aufgeschnitten, so daß sich ein etwa rechteckiges Gewebestück ergibt, aus welchem nun mit einer feinen Präparierschere die "Patch-Raute" herausgeschnitten wird. Diese, an den Ecken abgerundete Raute muß gerade so groß sein, daß sie gut auf das aufgespannte, noch offene Stück der Venenanastomose paßt (f).

Das Patch wird in die noch offene Stelle der Anastomose eingenäht und dann mit fortlaufenden Nähten befestigt, wobei der Abstand zwischen den einzelnen Stichen möglichst eng zu halten ist (g,h).

Nach Fertigstellung der venösen Anastomose: (i) werden 2 Bulldoggeklemmen, die in paralleler Richtung an V.

Abb. 26
Milzvenenanastomose



lienalis und V.renalis angebracht worden waren, entfernt. Diese Bulldoggen gewährleisten durch ihre parallele Anordnung, daß beide Gefäße während des Anlegens der Nähte unverdreht zur Verbindung kommen.

2.8. Nachbehandlung der operierten Hunde

In der postoperativen Phase wurde an beiden Hunden täglich Puls- und Atemfrequenz gemessen. Thorax und Abdomen wurden auskultiert, das Abdomen zusätzlich sorgfältig palpiert.

Für Routineuntersuchungen und zur Serumgewinnung wurde allen Tieren täglich ca. 10ml peripheres Venenblut abgenommen.

- die Messung des Hämatokrits erfolgte nach der Mikrohämatokritmethode nach Hawksley als Doppelbestimmung mit Mittelwertbildung.
- Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten wurden mikroskopisch in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt.
- aus je einem Tropfen venösen Blutes wurden zwei Ausstriche zur Bestimmung des Differentialblutbildes hergestellt und nach Pappenheim (panoptische Färbung) angefärbt.
- Blutungs- und Gerinnungszeit wurden bestimmt.
- die Hämoglobinbestimmung erfolgte nach der Cyanhämoglobinmethode.

Das gewonnene Serum diente einmal zu immunologischen Untersuchungen, zum anderen wurde aus diesen Proben in der Phase nach der allogenen Nierentransplantation Serum-Kreatinin und Serum-Harnstoff bestimmt. Außerdem erfolgte anhand dieser Serumproben bei klinischem Verdacht auf eine akute Pankreatitis die Bestimmung der Konzentration an α -Amylase mittels photometrischer Messung¹⁾.

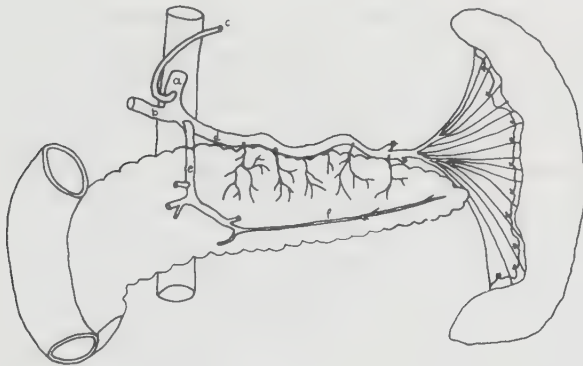
In den folgenden Kapiteln wird die spezifische Prophylaxe einiger für die Hundemilztransplantation typischer Komplikationen zusammengefaßt, wie sie bei diesen Experimenten zur Anwendung kam.

2.8.1. Prophylaxe der akuten nekrotisierenden Pankreatitis

Bei der Explantation der allogenen zu transplantierenden Milz von Hund A wird bei der 1.Operation ein unvermeidbares Trauma gesetzt. Um für das Anfertigen der Anastomosen einen genügend langen Gefäßstiel zur Verfügung zu haben, wird die A.lienalis sehr weit nach proximal auf den truncus coeliacus zu freipräpariert. Dabei werden regelmäßig einige arterielle Abgänge aus der A.lienalis zur Bauchspeicheldrüse ligiert und so die Blutzufuhr zu diesem Organ unterbrochen (Abb. 27). Gegen Ende der 1.Operation zeigt die cauda pancreatis bereits eine farblich auffällige Demarkation. In anatomiegerechter und zarter Operationsweise wird die cauda pancreatis mobilisiert und entlang der Demarkationslinie im Gesunden reseziert (Abb. 28). Die Schnittfläche an der Bauchspeicheldrüse wird vor Verschuß des Abdomens noch mit Fettgewebe des Omentum maius ausgelegt, um eine evt. nachfolgende Autodigestion lokal auf das Fettgewebe zu begrenzen und eine Andauung oder gar Perforation intestinaler Organe zu verhindern.

¹⁾ Monotest® α -Amylase, Boehringer Mannheim GmbH. bei $\lambda = 365\text{nm}$.

Arterielle Versorgung der Milz und der Cauda pancreatis



- a) Truncus coeliacus b) A. hepatica communis c) A. gastrica si
d) A. lienalis e) A. pancreatica dorsalis f) A. pancreatica
magna transversa

Abb. 27 Überblick über die arterielle Versorgung von
Milz und cauda pancreatis

Pankreas-Teilresektion nach Milzexplantation

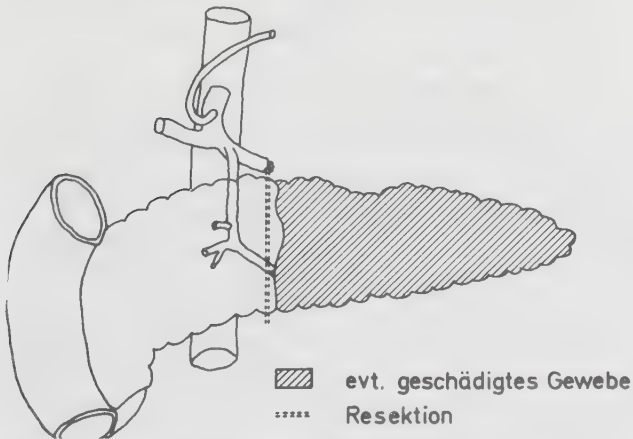


Abb. 28 Resektion der cauda pancreatis

Um eine sekretorische Ruhigstellung der Bauchspeicheldrüse zu erreichen, wird dem Hund über 2 bis 3 Tage postoperativ eine völlige orale Flüssigkeits- und Nahrungskarenz auferlegt. Zur zusätzlichen Vagolyse werden täglich 0,5mg Atropin¹⁾ appliziert. Außerdem wird der Proteinaseinhibitor Aprotinin²⁾ verabreicht: noch während der 1.Operation bekommt Hund A bereits 500.000 KIE (= Kallikrein-Inaktivator-Einheiten, $\hat{=}$ 70mg) Aprotinin infundiert, da Enzymeffekte in der Regel als Sofortreaktionen ablaufen und der Proteinase-Inhibitor deshalb so früh wie möglich appliziert werden sollte. In den auf die 1.Operation folgenden Tagen bekommt Hund A zweimal täglich je 200.000 KIE Aprotinin bis zum 4.postoperativen Tag einschließlich als langsame Kurzinfusion (5ml/min). Um einer reflektorischen Auswirkung von Schmerzen auf den Kreislauf vorzubeugen, werden Spasmolytica³⁾ eingesetzt. Zur Infektionsprophylaxe verabreicht man hochdosiert Antibiotika. Die wesentlichen Eckpfeiler dieser Pankreatitis-Propylaxe sind in Tab. 5 noch einmal kurz zusammengefaßt.

Tab. 5 Pankreatitis-Propylaxe	
1.	Resektion der Cauda pancreatis bei Hund A nach der Milzexplantation
2.	Orale Flüssigkeits- und Nahrungskarenz 3 Tage lang postoperativ $\Rightarrow$ parenterale Ernährung von Hund A
3.	Proteinaseinhibitor Aprotinin intraoperativ: 500.000 KIE i.v. postoperativ: 2.200.000 KIE i.v./Tag (1. mit 4.postoperativer Tag)
4.	Schockprophylaxe: Plasmaexpander und Elektrolyte
5.	Infektionsprophylaxe (Breitbandantibiotika)

Für die Zeitdauer der Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz muß das Tier parenteral ernährt werden. Dazu werden hochkonzentrierte Monosacharid-Lösungen (über 15%) verwendet. Hierin und in der Schockprophylaxe durch Plasmaexpander und Elektrolytinfusionen ist die Indikationsstellung für einen zentralvenösen Zugang begründet. Der zentrale Venenkatheter wurde täglich entweder über die oberflächlich verlaufende V.jugularis oder über die V.saphena gelegt und nach Beendigung der Infusionstherapie zur Vermeidung von Infektionen wieder gezogen. Die V.jugularis ist am seitlich liegenden Hund gut zu sehen. Nach Stauung durch Kompression mit dem Zeigefinger erfolgt die Punktion in schräg cranialer Richtung, während die V.saphena oberhalb des Sprunggelenkes punktiert werden kann. Tab. 6 zeigt das Infusionsprogramm für Hund A nach der 1.Operation.

1) Atropinsulfat[®] Drobeta, Drobeta GmbH, Berlin.

2) Trasylol[®], Bayer AG, Leverkusen.

3) Baralgin[®], Albert-Roussel Pharma GmbH, Wiesbaden.

Tab. 6 Infusionsprogramm für Hund A nach der 1.Operation		
Tage post OP.	Menge	Substanz
0	250 ml	Elektrolyte (mit 10mval Na ⁺ + 10mval Cl ⁻ /h) (Elektrolyte--Grundlösung® , Fresenius KG, Bad Homburg) Dosis: 3ml/kg KG · h
	450 ml	Kohlenhydrat-Lösungen Dosis: max. 0,25-0,50 g/kg·h Glucose max. 0,25 g/kg·h Fructose
1	250 ml	Elektrolyte
	450 ml	Kohlenhydratlösung (15%ig: direkt, 40%ig: Aminofusin® im Bypass)
	450 ml	Dosis: max. 0,1g/kg KG·h
2	250 ml	Elektrolyte
	450 ml	Kohlenhydratlösung
	450 ml	Aminofusin®
3	wie Tag 1 und Tag 2	
zusätzlich wurden folgende Medikamente in der Infusion appliziert:		
-	250 mg/24 h	Vitamin C
-		Antibiotika
-	2·200.000KIE/24	Aprotinin
-		Analgetika, Vagolyse

2.8.2. Vermeidung der Thrombosierung von A. und V.lienales

Die Versorgung von Hund B nach der 1.Operation und die von Hund A nach der 2.Operation ist grundsätzlich die gleiche, da in beiden Fällen eine ausreichende Hämodilution und Antikoagulation zur Vermeidung von thrombotischen Verschlüssen der Milzgefäße, besonders an den Stellen der Anastomosen, durchgeführt werden muß. Hierzu werden ein Gerinnungshemmer, ein Aktivator der Zirkulation und ein kolloidaler Plasmaexpander kombiniert.

Am Morgen des 1.postoperativen Tages setzt die Kombinationstherapie von 'low-dose-Heparin' und Dihydergotamin ein und dauert bis zum Versuchsende. Heparin¹⁾ wird jeweils morgens und abends abwechselnd in die linke und in die rechte Flanke mit einer feinen Nadel appliziert, wobei 2.500 IE/10kg KG · Tag gegeben werden. Die Injektion in das Fettgewebe der Flanke ermöglicht eine langsame Resorption und gewährleistet die Erhaltung eines niedrigen Heparin-Serum-Spiegels. Im gleichen zeitlichen Rhythmus wurden 2·0,5 mg Dihydergotamin-methansulfonat²⁾ pro Tag, ebenfalls s.c., appliziert. Um Wirkstoffausfällungen zu vermeiden, muß Heparin und Dihydergotamin in getrennten Spritzen aufgezogen und verabreicht werden.

1) Heparin-Calcium 12500 medac®, medac GmbH, Hamburg.

2) Dihydergot®, Sandoz AG, Nürnberg.

Schon während der Milztransplantation erhielt das jeweilige Empfängertier intraoperativ etwa 20 Minuten vor Öffnen der Gefäßklemme an der A.lienalis 250ml Dextran¹⁾ infundiert (2.7.1.2 und 2.7.2.2.). Auch postoperativ werden täglich 250ml Dextran appliziert. Tab. 7 faßt die Medikamente und Infusionen für Hund B nach der ersten und Hund A nach der zweiten Operation zusammen.

Tab. 7 Tägliches Infusions- und Medikamentenprogramm für den Milzempfänger		
Menge	Substanz	
250ml	Elektrolyte	i.v.
250ml	Dextran-Lösung (± 15g Dextran)	i.v.
2.500IE	Calcium-Heparin/10kg KG	s.c.
2 · 0,5 mg	Dihydergotamin	s.c.
zusätzlich bei Bedarf:		
-	Analgetika	
-	Antibiotika	

2.8.3. Therapie von starken intra- und postoperativen Blutverlusten

Bei Hämatokritwerten von größer oder gleich 25% erfolgte eine Volumenersatztherapie nur mit natürlichen Kolloiden und Elektrolytlösungen. Bei Hämatokritwerten von weniger als 25% wurden Bluttransfusionen verabreicht. Dazu wurden jedem Tier vor Beginn eines Experimentes etwa eine Woche vor der 1.Operation 300 - 450 ml Vollblut in Citratbeuteln entnommen, um es im Bedarfsfall für eine Autotransfusion zur Verfügung zu haben. Darüber hinaus darf beim Hund einmal - auch bei Blutgruppeninkompatibilität - allogenes Vollblut transfundiert werden. Die Applikation der Bluttransfusionen erfolgte unter Einschaltung eines Filters²⁾ hinter dem Transfusionsbeutel.

2.9. Funktionelle und morphologische Kriterien der Funktionsfähigkeit der transplantierten Organe

2.9.1. Methoden zur Funktionsbeurteilung der transplantierten Milz

Der experimentellen Einfachheit halber beschränkten wir uns intraoperativ während der 2.Operation an Hund B auf die makroskopische Erscheinung und retrospektiv bei Sektionen auf die pathologische und histologische Begutachtung der zweimal transplantierten Milz als Beurteilungskriterien für den Funktionszustand des transplantierten Organes.

1) Makrodex® 6%, Knoll AG, Ludwigshafen.

2) Mikrofiltrationsgerät MF 10B®, Biotest-Serum-Institut GmbH Frankfurt/Main.

2.9.1.1. Intraoperative Untersuchung der allogenen transplantierten Milz

Während der 2. Operation wurde die Milz, die zur autologen Rücktransplantation von Hund B nach Hund A anstand, nach Farbe, Größe und Konsistenz beurteilt. Besonders beachtet wurden die Anastomosen zwischen A.lienalis und A.renalis sin. einerseits und V.lienalis und V.renalis sin. andererseits.

Zur Beurteilung der Durchgängigkeit der arteriellen Anastomose dienten der Puls distal der Anastomose und sichtbare Pulsationen an den Milzhilusgefäßen.

Die Vene wurde distal der Anastomose mit einer Bulldogg-Klemme verschlossen und das Blut mit zwei Fingern nach proximal aus dem Gefäß gedrückt, anschließend die blutleere Vene proximal der Anastomose mit einer zweiten Bulldogge abgeklemmt. War die Venenplastik zwischen V.lienalis und V.renalis sin. durchgängig, so füllte sich der gesamte blutleere Abschnitt der Vene schlagartig mit Blut, wenn man die milzseitige Bulldogge entfernte.

Außerdem ließ sich ein Milztransplantat mit durchgängiger venöser Anastomose unter leichtem Druck mit der Hand komprimieren und verkleinern.

2.9.1.2. Pathologische und histologische Untersuchung der Milz

Nach Beendigung eines jeden Versuches wurde bei der anschließenden Sektion von Hund A die ganze Milz samt Gefäßanastomosen entnommen. Das Organ wurde gewogen und gemessen. Die makroskopisch-pathologische Begutachtung erfolgte durch Beschreibung der Ober- und Schnittfläche durch das Organ, dessen Farbe und Konsistenz. Die Anastomosen wurden aufgeschnitten und auf ihre Durchgängigkeit hin überprüft. Danach wurden aus dem Organ ca. 1cm dicke, scheibenförmige Proben geschnitten und diese in kleine Würfel zerteilt. Ein Teil dieser Proben wurde in 5-7 %iger Formalinlösung fixiert, der Rest wurde durch Eintauchen der Gewebestücke in flüssigen Stickstoff schnell tiefgefroren und anschließend bei -20 °C aufbewahrt.

Die histologische Aufarbeitung der Proben erfolgte an Hand von Paraffin- und Gefrierschnitten. Neben Hämatoxylin-Eosin- und Eisenfärbungen kamen auch eine Reihe von Enzymspezialfärbungen zur Anwendung: saure Esterase, alkalische Phosphatase, saure Phosphatase, unspezifische Esterase und Immunglobulinfärbung. Mit Hilfe der unspezifischen Esterase (färbt histiozytäre Retikulumzellen von Follikeln mit oder ohne germinative Zentren), der sauren Phosphatase (stark positiv auf histiozytäre Retikulumzellen) und der alkalischen Phosphatase (positive Reaktion der fibroblastischen Retikulumzellen stellt die Grenze von T-Zellen gut sichtbar dar) sollte eine Unterscheidung zwischen B- und T-Zell-Regionen getroffen werden.

2.9.2. Funktionelle und morphologische Beurteilung der transplantierten Niere

2.9.2.1. Klinische und serologische Verlaufskontrolle in der Phase nach der allogenen Nierentransplantation

Die tägliche Überprüfung der Funktionstüchtigkeit der implantierten allogenen Niere erfolgte in der Phase nach der 2.Operation in folgender Weise:

- a) Serum-Creatinin als der zuverlässigste Indikator der Nierenfunktion unter den harnpflichtigen Substanzen im Blut wurde nach der Jaffé-Methode mit Enteiweißung ¹⁾ bestimmt.
- b) Serum-Harnstoff wurde nach der Urease/Berthelot-Methode im enzymatischen Farbstest ²⁾ bestimmt.
- c) Die Diurese wurde nur qualitativ überwacht. Eine exakte quantitative Messung der ausgeschiedenen Urinmenge wäre nur mittels eines Blasenkatheters möglich gewesen, auf welchen aber verzichtet wurde.
- d) Aus täglich gewonnenem Urin wurde der Urinstatus mit einem Kombinationsteststreifen ³⁾ bestimmt. Dabei wurde für folgende Parameter ein halbquantitativer Nachweis erbracht: Nitrit, pH-Wert, Albumin, Glucose, Keton, Urobilinogen, Bilirubin und Blut.
- e) Mikroskopische Untersuchung des Harnsedimentes auf Erythrozyten, Leukozyten, Bakterien, Epithelien und Zylinder (240-fache Vergrößerung).

2.9.2.2. Pathologische und histologische Untersuchung der Niere

Bei der Sektion von Hund A am Ende jedes Experimentes wurde die allogene Transplantatnieren mit Teilen von A.iliaca ext., V.iliaca ext. und Blase entnommen, um die Durchgängigkeit der beiden Gefäßanastomosen und der Ureter-Blasen-Anastomose überprüfen zu können. Das entnommene Organ wurde entlang der Konvexität bis zum Nierenbecken eingeschnitten, das Nierenbecken mit einer Schere eröffnet und der untere Nierenpol durchtrennt. Makroskopisch wurde die Niere nach Größe, Gewicht, Farbe, Konsistenz und Schnittfläche beurteilt. Anschließend wurde eine ca. 0,5cm dicke Längsscheibe aus dem Organ herausgeschnitten und in 5-7 %iger Formalin-Lösung fixiert.

Die histologische Begutachtung der Gewebeproben aus den Transplantatnieren wurde an Paraffin-Schnitten mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung durchgeführt. Es erfolgte eine Begutachtung der Glomerula, der Tubuli und des Interstitiums. Besondere Beachtung wurde den Gefäßen und evt. perivaskulären Infiltraten mit Lymphozyten zuteil.

1) Test Combination Creatinin® , Boehringer Mannheim GmbH.

2) Boehrigger Mannheim GmbH.

3) Combur-Test® , Boehringer Mannheim GmbH.

2.10. Immunologischer Aktivitätsnachweis der transplantierten Milz

2.10.1. Immunisierung der Hunde gegen Schaf- oder gegen Pferdeerythrozyten (SRBC bzw. HRBC)

Zur Immunisierung der Hunde wurden in 15 Versuchen Schaf- (SRBC) und Pferdeerythrozyten (HRBC) verwendet. Die immunisierten Tiere sollten gegen die xenogenen Erythrozyten eine zytotoxische Immunreaktion entwickeln, um dann die entsprechenden Antikörper als biologische Parameter im Serum der Hunde mittels "in-vitro"-Methoden nachweisen zu können.

Die Immunisierung der Versuchstiere erfolgte durch drei sukzessive Antigenapplikationen, im Abstand von jeweils 2 Tagen. Aus den Spender-Empfänger-Paaren wurden 30 von 58 Hunden immunisiert, davon 15 "Spender"-Hunde (Hund B) gegen SRBC und 15 "Empfänger"-Hunde (Hund A) gegen HRBC. Bei jeder der drei Antigenexpositionen wurden ca. $1,8-2,5 \cdot 10^9$ Zellen verabreicht (entspricht ca. 8ml Erythrozytensuspension) und zwar:

- 2ml i.v. in die V.cephalica antebrachii
 - 2ml in den nodus lymphaticus popliteus und
 - 4-1ml an verschiedenen Stellen subkutan in die Flanken.
- (Abb. 29 und Abb. 30)

Die Erythrozytensuspensionen wurden für die einzelnen Immunisierungen jeweils frisch wie folgt vorbereitet. Aus den Fläschchen mit Na-EDTA-stabilisiertem Schaf- bzw Pferdeblut, die im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt wurden, wurden jeweils 10ml entnommen und mit physiologischer Kochsalzlösung dreimal gewaschen, wie an anderer Stelle genau beschrieben (27). Zuletzt wurde der Erythrozyten-Bodensatz erneut mit etwa 3-4 ml isotoner, steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch mehrfaches Schwenken gut durchmischt. Für jede der drei Immunisierungen der Hunde standen etwa 8ml gewaschene SRBC- oder HRBC-Suspension zur Verfügung.

Bei der ersten Immunisierung in den Nodus lymphaticus popliteus wurde eine Suspension von SRBC bzw HRBC mit kompletten Freundschens Adjuvans¹⁾ verabreicht. Diese 2ml der Antigen-Suspension wurden folgendermaßen hergestellt: 1ml SRBC- bzw HRBC-Suspension wurde zusammen mit 1ml kompletten Freundschens Adjuvans in einer 2ml-Spritze aufgezogen (Mischungsverhältnis also 1:1) und mit einem Homogenisator fein emulgiert (Abb. 31). Dadurch werden die feinen immunogenhaltigen Wassertröpfchen möglichst homogen mit Öl umgeben. Bei der 2. und 3. Immunisierung erfolgte die Applikation am Lymphknoten ohne Freundsches Adjuvans.

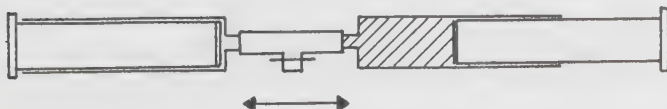


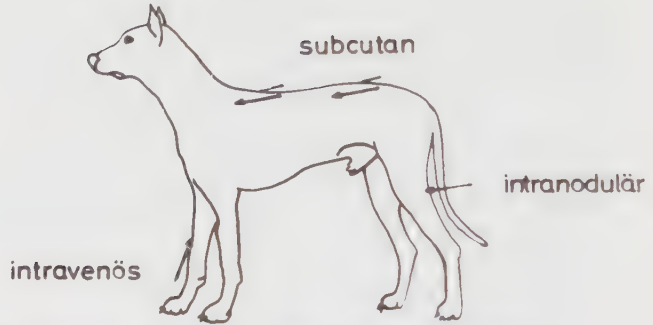
Abb. 31

Emulgator

10-20 mal hin- und her drücken.

1) Behring-Werke AG, Marburg/Lahn.

IMMUNISIERUNG DER HUNDE GEGEN SRBC BZW. GEGEN PFERD - RBC



IMMUNISIERUNG DER HUNDE GEGEN SRBC BZW. GEGEN PFERD - RBC

	7. prae-op. Tag	6. prae-op. Tag	5. prae-op. Tag	4. prae-op. Tag	3. prae-op. Tag	2. prae-op. Tag	1. prae-op. Tag	Tag der ersten Operat.
Nodus lymph. poplit. (1x)	2 ml		2 ml		2 ml			
subcutan (4x)	1ml		1ml		1ml			
	1ml		1ml		1ml			
	1ml		1ml		1ml			
	1ml		1ml		1ml			
intra-venös (1x)	2 ml		2 ml		2 ml	1 ml $\pm$ $8.5 \cdot 10^9$	Ery	
ohne F. A. mit Freundschem Adjuvans								

Abb. 29 und Abb. 30

Die Immunisierung der Hunde gegen SRBC und gegen HRBC.
Applikationsstellen und applizierte Antigenmengen.

2.10.2. Serologischer Nachweis von Antikörpern gegen Schaf- und Pferdeerythrozyten

2.10.2.1. Direkter Hämagglutinationstest

Die Hämagglutination von SRBC und HRBC durch hämagglutinierende Antikörper in den Hundeseren wurde nach dem Mikrotiterverfahren bestimmt.

Aus den Hundeseren wurden dazu jeweils Proben von 100 μ l entnommen und 30 Minuten lang bei 56 °C im Wasserbad inaktiviert. Aus dem EDTA-stabilisierten Schaf- bzw. Pferdevollblut wurde nach dreimaliger Waschung in steriler, physiologischer Kochsalzlösung je eine 2 %ige Erythrozytensuspension hergestellt.

In jedes Näpfchen der Testplatte¹⁾ (Abb. 32) wurden mit Hilfe einer Pipette 50 μ l phosphatgepufferte Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel vorgelegt. In die Näpfchen der 1. vertikalen Reihe wurden je 25 μ l inaktiviertes Serum pipettiert und anschließend mittels eines Spezialgerätes²⁾ in den dahinterliegenden vertikalen Näpfchenreihen 2 bis 12 eine Verdünnungsreihe in duallogarithmischen Stufen hergestellt ("gekämmt"). Außerdem mußte jedes Näpfchen mit einer definierten Menge der 2 %igen Erythrozytensuspension (SRBC oder HRBC) beschickt werden. Als Leerkontrolle

1) Nuclon® Delta, Intermed Nunc, Denmark.

2) Dynadrop® MR, Dynatech.

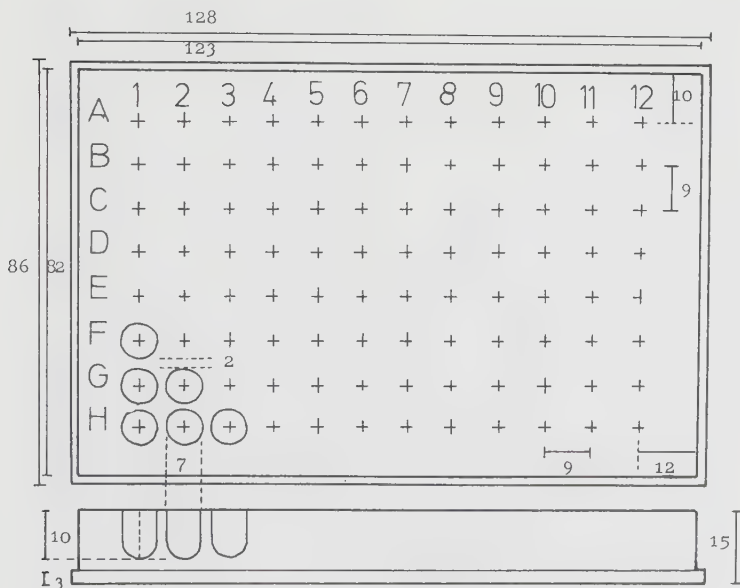


Abb. 32 Mikrotiterplatte für den Hämagglutinationstest (Maßstab 1:1, Abmessungen in mm)

(Nullwertkontrolle) lief in einem Nöpfchen auch nur eine Mischung aus steriler, physiologischer Kochsalzlösung und der gleichen Menge der 2 %igen SRBC- oder HRBC-Suspension. Eine Testplatte konnte also mit 7 verschiedenen Serumproben (Abis G in Abb. 32) beschickt werden.

Anschließend wurden die aufgefüllten Platten zuerst für die Dauer von 90 Minuten im Brutschrank bei 37 °C inkubiert und danach weitere 30 Minuten bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

Das Ablesen einer evt. aufgetretenen Agglutination der Erythrozyten erfolgte unter einem Spezialspiegel¹⁾. In Anlehnung an die ähnliche Methodik in der Mikrobiologie wurden nur Titeranstiege über vier oder mehr Stufen der Verdünnung (also eine 16fache oder höhere Konzentration an Antikörpern) als aussagekräftig betrachtet.

2.10.2.2. Modifizierter Mancini-Test

Zum Nachweis eines Transfers hämolysierender Antikörper gegen HRBC bzw. gegen SRBC kam in unseren Versuchen eine einfache quantitative Methode zur Anwendung, die von Hiramota, McGhee, Hurst und Hamlin (63) beschrieben wurde und die eine Modifikation im Sinne einer Umkehrung des von Mancini angegebenen Verfahrens darstellt.

Diese Methode basiert auf folgenden Überlegungen: in einer Agar-Schicht bekannter Höhe, die in bekannter Konzentration homogen suspendierte SRBC oder HRBC enthält, werden mittels eines präzisen Stanzstempels (Abb. 33) Löcher mit einem exakt definierten Durchmesser (hier: $\phi = 4,0\text{mm}$) gebohrt. In diese Löcher wird eine ganz bestimmte Menge an verdünntem oder unverdünntem Hundeserum mit einer unbekannten Konzentration an hämolysierenden Antikörpern gegen SRBC bzw. HRBC gegeben, um in einem definierten Zeitraum in den umgebenden Agar zu diffundieren und dort nach Zugabe von Komplement eine Lyse der suspendierten Erythrozyten hervorzurufen. Die Fläche dieser Lysis-Zonen ist direkt proportional der Quadratwurzel der Serumantikörperverdünnung und indirekt proportional der Erythrozytenkonzentration im Agar. Bei den hier zur Anwendung kommenden Versuchsreihen wurden Agardicke, Agarkonzentration, Agarsorte, Lochdurchmesser und Lochtiefe, sowie die Verdünnungsreihe standardisiert, um eine quantitative Bestimmungsmethode für die unbekannten Konzentrationen an hämolysierenden Antikörpern zu erhalten.

Für die Agar-Diffusionsplatten wurden SRBC und HRBC nach Waschung in physiologischer Kochsalzlösung und Zählung im Hämozytometer durch Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung auf eine bestimmte Standard-Zellkonzentration eingestellt, welche während aller Versuche beibehalten wurde. Verwendet wurde 0,8 %iger Agar²⁾ in Hank'scher Lösung, versetzt mit 0,4ml DEAE-Dextran³⁾ pro 10ml Agarlösung. Nach kurzem Aufkochen wurde der Agar in einem Wasserbad auf 70 °C gehalten, danach flüssig in

1) Cooke Microtiter® System, Dynatech.

2) Sea Plaque® Agarose, 0,8%, Marine Colloids Div., FMC Corporation, Rockland, USA.

3) DEAE-Dextran®, Pharmacia, Uppsala, Schweden.

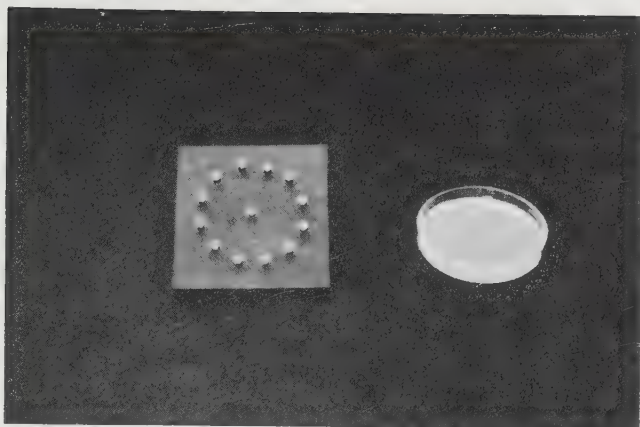
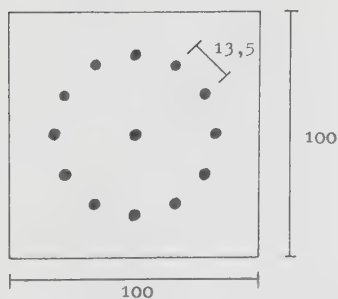


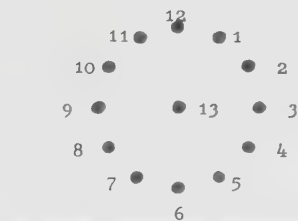
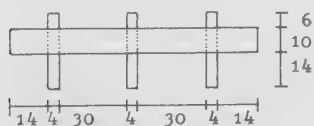
Abb. 33
Schablone zum Ausstanzen von definierten Bohrlöchern in Agar



Aufsicht

Maßstab 1:2 (mm-Angaben)

Seitenansicht



Serum X	Verdünnung	Loch
	1 : 0	1 + 2
	1 : 1	3 + 4
	1 : 2	5 + 6
Serum Y	Verdünnung	Loch
	1 : 0	7 + 8
	1 : 1	9 + 10
	1 : 2	11 + 12
Leerwert	(Hanks-Lsg.)	13

Abb. 34
Abmessungen der Bohrschablone

Abb. 35
Schema für die Aufteilung der Serumproben auf einer Agarplatte

vorgewärmte Reagenzgläser in Portionen von je 10ml aufgeteilt und diese Reagenzgläser wurden in einem weiteren Wasserbad auf 48 °C gehalten. Kurz vor Einbringung der Erythrozyten in die Agar-Lösung wurde diese auf 37 °C abgekühlt, um die Zellen durch Hitze nicht zu schädigen. In jedes dieser Reagenzgläser wurden 800µl von SRBC bzw. HRBC ($1,84 \cdot 10^9$ Zellen/ml) pipettiert, die Gläser verschlossen und gut durchmischt, um eine möglichst homogene Suspension zu erhalten. Anschließend wurde der Inhalt eines jeden Reagenzglases in je eine Plastik-Petrischale ($\phi = 98$ mm) ausgegossen. Eine Wägung der entleerten Reagenzgläser ergab, daß ca. 250µl Agar-Lösung bei Ausgießen in die Petrischalen regelmäßig zurückblieben, was einem 2,5 %igen systematischen Fehler entspricht, der aber konstant blieb und somit für die weiteren Berechnungen nicht berücksichtigt wurde. Die Petrischalen wurden auf einem horizontal ausgerichteten Spezialtischchen gelagert, um bis zum Festwerden des Agars eine gleichmäßige Dicke der Agarschicht über die ganze Petrischale zu gewährleisten. Die Standard-Erythrozytenkonzentration auf den Agar-Platten wurde auf $9,0 \cdot 10^6$ Zellen/mm³ festgelegt. Zur weiteren Festigung des Agars wurden die Platten 12 Stunden bei 4 °C aufbewahrt. Mit der Bohrschablone (Abb. 34) wurden danach 13 Löcher ($\phi = 4,0$ mm) in die Agarschicht gestanzt und deren Inhalt mit Pasteurpipetten abgesaugt. Für je zwei Serum-Proben wurde eine Agar-Platte verwendet und nach einem bestimmten Schema (Abb. 35) beschickt.

Anschließend erfolgte eine 44-stündige Inkubation der Platten bei 4 °C im Kühlschrank, was für eine vollständige Diffusion der Antikörper aus den Löchern in den umliegenden Agar als ausreichend erachtet wird (63). Danach müssen die Agarschichten mit Komplement¹⁾ (lyophilisiertes Kaninchenkomplement, 1:10 verdünnt) überschichtet werden, gefolgt von einer 1-stündigen Inkubation bei 37 °C und 5% CO₂-Atmosphäre. Diese Komplementüberschichtung mit anschließender Inkubation wird noch dreimal wiederholt. Danach können die Lyseflächen mittels einer Meßschablone ausgemessen werden (Abb. 36).

Die näherungsweise Berechnung der Anzahl hämolysierter Erythrozyten ('target cells') basiert auf folgenden Überlegungen: Je 6 Diffusionslöcher sind einer Serumprobe zugeordnet, 2 Löcher sind immer mit der gleichen Serumverdünnung gefüllt, so daß für jeden einzelnen Meßwert eine Doppelbestimmung mit Mittelwertbildung möglich ist. Aus dem mittleren Durchmesser der kreisförmigen Lysisfläche wird dann durch Halbierung der Radius gewonnen und daraus mittels der Kreisflächengleichung ($A = r^2 \cdot \pi$) die gesamte lysierte und ausgestanzte Fläche im Erythrozytenagar ermittelt. Die 'Nullfläche' ($A_0 = r_0^2 \cdot \pi$), welche den aus der Agarplatte ausgestanzten Löchern entspricht, muß von der Fläche A abgezogen werden, um die sog. 'Nettodiffusionsfläche' zu erhalten ($A_{\text{netto}} = A - A_0$). Da stets dieselben Plastikpetrischalen ($\phi = 98$ mm) mit konstant gleicher Menge Agar ($M = 10$ ml) auf einem ausgeloteten Untergrund ausgegossen wurden, konnte für die weitere Berechnung eine konstante Dicke der Agarschicht vorausgesetzt werden ($d = 1,44$ mm). Zusammen mit der ermittelten 'Nettodiffusionsfläche' kann dann ein Hohlzylinder der Hämolysen berechnet werden ($V = A_{\text{netto}} \cdot d$).

1) Behring-Werke AG, Marburg/Lahn.

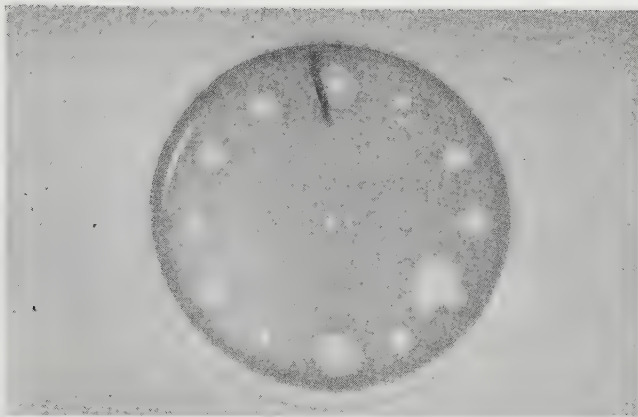


Abb. 36
Agarplatte mit lysierten Zonen

Letztlich läßt sich dann noch durch Einbeziehung der Erythrozytenkonzentration im Agar ($c=1,84 \cdot 10^9$ Zellen/ml) nach der Gleichung $m=V \cdot c$ die ungefähre Menge an hämolysierten Erythrozyten berechnen. Da aber zwischen der lysierten Fläche und der Quadratwurzel der Antikörperkonzentration eine strenge, direkte Proportionalität besteht, erweist sich die Angabe der 'Nettodiffusionsfläche' für die zeichnerische Auswertung der Versuche als ausreichend.

Berücksichtigt werden muß nur, daß die Flächen der Lysiszonen um das unverdünnte Serum einfach gewertet, die um das 1:1 verdünnte Serum doppelt und die um das 1:2 verdünnte Serum vierfach bewertet werden, um dann aus allen drei Werten einen arithmetischen Mittelwert bilden zu können.

2.10.3. Nachweis von antikörperbildenden Zellen und DLA-Typisierung der Versuchstiere

2.10.3.1. Direkter und indirekter Plaque-Test

Im folgenden wird eine Aufstellung der Methoden gegeben, mit welchen bei den hier beschriebenen Versuchen ein direkter Nachweis von antikörperbildenden Zellen versucht wurde.

Gewinnung von Hundelymphozyten als Effektorzellen für den Plaque-Test

a) Lymphozyten aus dem peripheren Venenblut:

Mit einer 20ml-Einmalspritze mit 0,15ml Heparin¹⁾ wurde den immunisierten Hunden 15ml peripheres Blut entnommen und anschließend durch leichtes Schwenken in der Spritze gut durch-

1) Thrombophob®, Nordmark-Werke, Hamburg, 1ml $\approx$ 5.000 USP Hep.

gemischt. Das heparinisierte Vollblut wurde mit Hank'scher Lösung auf 20ml verdünnt, weil dadurch eine bessere Auftrennung der Blutbestandteile im Ficoll-Gradienten erreicht wurde. Die Separation der Hunde-Lymphozyten erfolgte im Ficoll-Gradienten: in konischen 50ml-Reagenzgläsern¹⁾ wurden 10ml Ficoll-Isopaque-Lösung²⁾ ($D = 1,077$) mit 20ml heparinisiertem Hundeblood überschichtet (Abb. 37). Bei 2700 U/min folgte eine 15-minütige Zentrifugation. Danach wurden die auf dem Ficoll-Gradienten aufschwimmenden Lymphozyten (Abb. 38) mittels einer Pasteur-Pipette mit kreisender Bewegung entlang der Reagenzglaswand abgesaugt und in Hank'scher Lösung dreimal 5 Minuten lang bei 1200 U/min gewaschen. Das oben aufschwimmende Plasma (Abb. 38) wurde ebenfalls abgesaugt und für andere Untersuchungen verwendet. Danach wurde die Lymphozytenkonzentration durch Zählung der Zellen in einer Neubauer-Zählkammer unter dem Mikroskop bestimmt und je nach Versuch auf $1,5 \dots 2,0 \cdot 10^7$ Zellen/ml eingestellt.

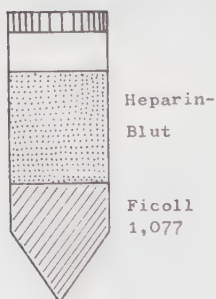


Abb. 37
Lymphozytenseparation im
Ficoll-Gradienten vor der
Zentrifugation

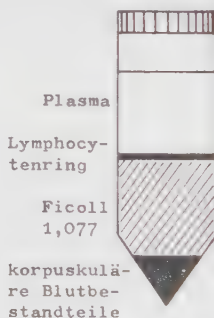


Abb. 38
Separierte Lymphozytenfraktion
auf Ficoll nach der Zentrifu-
gation

b) Lymphozyten aus der Milz von Hund B:

Im Verlauf der 1. Operation wird Hund B splenektomiert. Die steril entnommene Hundemilz wurde steril zerkleinert und die Gewebefetten anschließend durch ein Edelstahl-Drahtsieb (Porengröße: $0,5\text{mm} \cdot 0,5\text{mm}$) in ein Becherglas durchgerieben, das mit Hank'scher Lösung oder mit PBS (phosphate buffered saline $0,1\text{ g CaCl}_2/1$)³⁾ bei 4°C und $\text{pH } 7,2$ gefüllt war. Um noch vorhandene Zellaggregate zu trennen, wurde das durchs Netz geriebene Gemisch steril noch durch eine feine Kanüle⁴⁾ gedrückt. Die sich anschließende Separation der Lymphozyten erfolgte in gleicher Weise wie oben bei den Lymphozyten aus dem peripheren

1) Falcon®, Div. Becton Dickinson & Co, USA.

2) Pharmacia GmbH, Frankfurt/Main.

3) PBS Dulbecco's®, Grand Island Biological Company, N.Y. USA

4) Sterikan® L14, No. 21, $0,65 \cdot 32\text{mm}$, 23G, B. Braun-Melsungen AG, Melsungen.

Blut beschrieben. Die Zellen wurden mittels Tryptophan-Exklusionstest auf Vitalität geprüft. Dabei wurden stets ca 70% lebende Zellen in der Lymphozyten-Suspension nachgewiesen.

Gewinnung der Indikatorzellen (SRBC/HRBC) für den PFC(plaque-forming-cell)-Test:

Je 4ml Na-EDTA-stabilisiertes Schaf- bzw. Pferdeblut wurde dreimal mit je 5ml steriler physiologischer Kochsalzlösung durch leichtes Schwenken des Reagenzglases gewaschen und die Zellsuspension jeweils anschließend 5 Minuten lang bei 5.000 U/min zentrifugiert und der Überstand anschließend mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Nach der letzten Waschung wurden die SRBC bzw. HRBC in je 3ml physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und im Wasserbad bei 37 °C aufbewahrt. Nach Auszählung wurde die Zellsuspension auf $3,0 \dots 3,5 \cdot 10^9$ Ery/ml eingestellt.

Plaque-Test in Agar nach der Jerne-Technik:

Wie schon erwähnt, wurde versucht, den Nachweis von PFCs mittels der Jerne-Technik auf das System Hundelymphozyten anzuwenden. Dabei wurde der Versuchsansatz sowohl bezüglich der verschiedenen Agar-Sorten als auch hinsichtlich der experimentellen Technik mehrmals variiert. Als Agar-Sorten standen zur Verfügung:

- Sea-Plaque® Agarose, Marine Colloids Div, FMC Corporation, Rockland, USA.
- Indubiose® A 37 Agarose, L'Industrie Biologique Francaise, Gennevilliers, France.
- Indubiose® A 45 Agarose, L'Industrie Biologique Francaise, Gennevilliers, France.
- Reinagar Behringwerke, Behring Werke AG, Marburg/Lahn.
- Readyagarose Typ HGT, Müllener Gerätebau AG, Spreitenbach, Schweiz.

Der im folgende beschriebene Versuchsansatz wurde mit allen Agarsorten durchgeführt.

METHODE 1 (nach 51,133): Methode zur direkten Plaque-Bildung, mit Complement.

In einem Erlenmeyerkolben wird die Agarose in Hank'scher Lösung (Konzentrationen: 0,6 oder 0,8%) unter dem Bunsenbrenner ganz kurz aufgekocht und dann im Wasserbad bei 48 °C aufbewahrt. Dann wird die Agarose in Portionen von je 10ml in vorgewärmten Reagenzgläsern aufgeteilt und in einem zweiten Wasserbad auf einer Temperatur von 42 °C gehalten. Bei dieser Methode ohne Verwendung von Bodenagar wird die Agar-Zell-Mischung direkt auf Plastik-Petrischalen¹⁾ ausgegossen. Dazu müssen 100µl der SRBC- bzw. HRBC-Suspension zusammen mit 100 µl der PFC-Suspension in je 2ml Agar-Lösung pipettiert, leicht geschüttelt und auf die Petrischalen ausgegossen werden. Durch kreisende Bewegung der Petrischale muß der Agar schnell und homogen verteilt werden. Pro Ansatz in einer Petrischale wurden bei diesen Versuchen also $3-3,5 \cdot 10^8$ Erythrozyten als Indikatorzellen und $1,5-2,0 \cdot 10^6$ PFC als Effektorzellen zusammengebracht. Im Brutschrank werden die Petrischalen anschließend bei 37 °C und feuchter CO₂(5%)-Atmosphäre 1 Stunde lang inkubi-

1) Falcon®, Div. Becton Dickinson & Co, USA. Größe 94/16.

biert. Danach werden die Platten mit je 1ml Komplement überschichtet (1:10 verdünnt, Meerschweinchen oder Kaninchen, lyophilisiert), welches vorher 30 Minuten lang bei 4 °C an die jeweiligen RBC adsorbiert wurde (1ml Erythrozyten-Suspension auf 5ml Serum). Es folgt eine erneute halbstündige Inkubation bei 37 °C und feuchter CO₂(5%)-Atmosphäre. Nach einer 16-24-stündigen Aufbewahrung konnten die Petrischalen mit dem bloßen Auge oder unter dem Mikroskop (Vergrößerung: 12,5-fach) nach Plaques durchsucht werden.

METHODE 2 (nach 27):

Wie Methode 1, jedoch mit Bodenagar (1,0%) von der gleichen Sorte, mit dem dann die Zellen eingegossen werden. Der mit Effektor- und Indikatorzellen versetzte Überstand-Agar (0,6%) wird nach Antrocknen des Grundagars übergeschichtet.

METHODE 3: indirekte Methode

Wie Methode 1, nur werden in diesem Fall dem Gemisch aus RBC und PFC noch heterologes anti- γ -Ketten-Serum (Kaninchen-anti-Hund-IgG) vor dem Ausgießen in die Petrischalen zugesetzt, um evtl. zusätzliche Plaques zu finden, die durch IgG-Antikörperproduzierende Zellen hervorgerufen werden.

METHODE 4:

Wie Methode 1, jedoch mit 7stündiger Inkubation nach dem Ausgießen des Agars auf die Petrischalen. Alle anderen Parameter bleiben gleich.

Plaque-Test für hämolysierende PFCs ohne Verwendung von Agar:

Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß an die negativ geladene Oberfläche von speziell vorbereiteten Petrischalen mittels eines mehrfach positiv geladenen, molekularen Poly-L-Lysin-Filmes negativ aufgeladene Erythrozyten gebunden werden. Dazu werden Polystyren-Petrischalen (35·10mm) mit konzentrierter Schwefelsäure bis zur Bodenbedeckung angefüllt und 30 Minuten bei 25 °C inkubiert. Danach werden die Petrischalen zuerst mit bidestilliertem Wasser und danach mit PBS (phosphate buffered saline)¹⁾ ausgewaschen. Jede dieser Petrischalen wird anschließend mit 2ml 100-fach verdünnter Poly-L-Lysin-Lösung in PBS (ph 7,2; Konzentration: 0,025 mg/ml) ausgegossen und anschließend 40 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wird das Poly-L-Lysin ausgegossen und die Petrischalen werden dreimal mit PBS ausgewaschen. In jede Platte werden 2ml frisch gewaschene HRBC bzw. SRBC (1 %ig) zugegeben und bei Raumtemperatur 15 Minuten lang zur Sedimentation ruhig belassen. Erneute 15-minütige Sedimentation nach kurzem Aufschütteln. Danach können die restlichen, noch nicht an die Petrischale gebundenen Erythrozyten ausgegossen und der Zellrasen vorsichtig mit PBS ausgewaschen werden. An dieser Stelle konnte der RBC-monolayer mit PBS beschichtet bei 4 °C bis zur weiteren Verwendung (bis zu 24 Stunden) aufbewahrt werden.

Für den eigentlichen PFC-Ansatz werden 2ml einer minimal verdünnten Hunde-Lymphozyten-Suspension (ca. 10⁶ Zellen/Platte) mit 0,2ml 10%igen Meerschweinchen-Serum, das vorher in einer geschlossenen Kammer an SRBC bzw. an HRBC adsorbiert worden war, 45 Minuten lang bei 37 °C inkubiert. Durch die Ruhigstellung

1) PBS Dulbecco's, Grand Island Biological Company, N.Y., USA.

der Platten sedimentieren die Lymphozyten auf dem monolayer und können gegen SRBC/HRBC gerichtete Antikörper sezernieren. Zum Abschluß dieses Vorganges müssen die Antikörper-Produktionszentren auf dem monolayer, also die Lymphozyten, fixiert werden, weil sie sonst bei leichter Erschütterung der Platten bereits verschoben werden könnten. Deshalb werden die Schälchen etwa 12 Stunden lang zusammen mit einem offenen Gefäß mit 37%iger Formalin-Lösung inkubiert, wodurch die Lymphozyten fixiert werden. Anschließend werden die Platten erneut mit PBS ausgewaschen (ph 7,2) und nach Zugabe von PBS mit 2%igem Rinderalbumin (BSA; bovine serum albumine) und 0,02% Natriumazid können jetzt direkte Plaques sichtbar gemacht werden, wenn noch 1:250 verdünntes Kaninchen-anti- γ -Serum zugefügt wird.

Zur Sichtbarmachung indirekter Plaques dagegen wird Kaninchen-anti-Hund-IgG auf die Plättchen gegeben und 30 Minuten lang bei 37 °C inkubiert. Nach Auswaschen der Schälchen mit bidestilliertem Wasser folgt ein 5-minütiger "Einweichvorgang" in PBS-BSA-Natriumnitrit. Durch FITC-konjugiertes IgG (goat-anti-rabbit-IgG) wird bei 37 °C und 30 Minuten Einwirkzeit eine Färbung vorgenommen, anschließend werden die Platten mit entionisiertem Wasser ausgewaschen. Nach einer 2-3-stündigen Inkubation bei 4 °C in Dunkeln können dann Plaques auftreten.

2.10.3.2. DLA-Gewebetypisierung der Versuchstiere

Vor der Milztransplantation wurden einige der Empfänger- und Spenderhunde gewebetypisiert. Durch jeweils 2 DLA-(= dog lymphocyte antigen)-Typisierungen an Hund A und Hund B sollte untersucht werden, ob

- a) nach der 1.Operation durch die allogene Milztransplantation Lymphozyten mit Hund A-typischen DLA-Antigenen nach B transferiert werden und ob
- b) nach der 2.Operation, also nach autologer Milzrücktransplantation von Hund B nach A im peripheren Blut von Hund A Lymphozyten nachweisbar waren, welche DLA-Antigene von Hund B trugen.

Aus etwa 15-20ml Vollblut erfolgte die Lymphozytengewinnung durch sanftes, 3-4minütiges Schütteln und Schwenken eines verschließbaren Reagenzglases mit Glaskugeln, um welche sich ein Fibrinpfropf bildete. Die Histokompatibilitätstestung wurde mit 59 DLA-Antisera durchgeführt. 11 DLA-Antigene können mit diesem Serumsatz bestimmt werden. Es sind die DLA-Antigene A1,2,3,7,8,9 und B4,5,6,12,13.

2.11. Statistische Methoden der Versuchsauswertung

In dieser Arbeit mußten zur Auswertung der Versuchsergebnisse nur sehr einfache und fundamentale statistische Begriffe zur Anwendung kommen, da zum einen die geringen Fallzahlen aufwendige Statistiken erübrigten und andererseits die erzielten Ergebnisse bezüglich Abstoßung allogener Nierentransplantate eindeutig ausfielen.

Prozentangaben wurden immer nach der relativen Häufigkeit berechnet, also $h_i = n_i/n$ (n = Gesamtbeobachtungszahl, n_i = Merkmalsträger, h_i = Häufigkeit des Merkmals).

Alle Mittelwerte wurden als arithmetische Mittel angegeben, also: $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^4 x_i$.

In allen graphischen Darstellungen, die den zeitlichen Verlauf verschiedener Meßparameter zeigen, wurde die Spannweite (= Variationsbreite) in die entsprechende graphische Darstellung eingetragen. Diese Variationsbreite R ist definiert als die Differenz zwischen größtem und kleinsten Meßwert zu einem bestimmten Meßzeitpunkt: $R = x_{\max} - x_{\min}$.

Die Fragestellung, ob durch die zweimalige Milztransplantation eine statistische Signifikanz in der Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit des allogenen Nierentransplantates sich zeigte, wurde mit dem U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney (116) überprüft.

3. ERGEBNISSE

3.1. Technische Durchführbarkeit des Experimentes und Eindämmung der Komplikationsrate

3.1.1. Das Schicksal der Versuchstiere

In 29 Experimenten kamen 58 Hunde zum Einsatz. 15 Experimente "gelangen" insofern, als ihr Ergebnis für unsere Fragestellung brauchbar war. In Anlehnung an andere Arbeitsgruppen (24) definierten wir ein Experiment dann als "gelungen", wenn die allogene Niere nach der Transplantation die Urinausscheidung aufnahm und wenn die 2. Operation 5 Tage und länger überlebt wurde.

14 Experimente scheiterten, weil entweder eines der beiden Tiere während des Versuches verstarb oder die Allogen in Hund B implantierte Milz von Hund A für eine autologe Rücktransplantation auf Hund A nicht mehr geeignet war. Tab. 8 ordnet "gelungene" und gescheiterte Experimente den verschiedenen Versuchsreihen zu. In Tab. 9 wird das individuelle Schicksal aller 58 Versuchstiere genannt.

Tab. 8 Gelungene und gescheiterte Experimente			
Zeitl. Abstand zwischen beiden Operationen:	Anzahl der durchgeführten Versuche:	Gelungene Experimente	Gescheiterte Experimente
2 Tage	10	5	5
3 Tage	9	5	4
4 Tage	10	5	5
	29	15	14

Tab. 9 Schicksal der 58 Versuchstiere	
Gelungene Experimente:	
- als Empfängerhund (Hund A) in der Phase nach der 2. Operation bei Funktionsverlust des allogenen Nierentransplantates verstorben	15
- als Spenderhund (Hund B) am Ende der 2. Operation euthanasiert	17
Gescheiterte Versuche:	
- Thrombotischer Verschluß der Milzvenenanastomose (in 3 Fällen mit Thrombose der A. lienalis kombiniert)	5
- Akute nekrotisierende Pankreatitis	3
- Dünndarminvagination mit Ileus	3
- Letale Hämorrhagie mit Volumenmangelschock (davon eine Milzspontanruptur post operationem)	3
- Letale Narkosekomplikationen	2
- wurden nach einer Beobachtungsphase von 5-12 Wochen nach der 1. Operation eingeschláfert. Die 2. Operation fand nicht statt, weil der Versuchspartner des Tieres vorher verstarb.	10
	58

3.1.2. Komplikationen bei der Milztransplantation am Hund

3.1.2.1. Thrombosierung von A. und V.lienales

Die Hauptkomplikation bei den ersten 12 Versuchen war der Verschuß der Milzvene an der Stelle der Anastomose mit der V. renalis durch Thromben. Dies ereignete sich in 5 Fällen, wobei in 3 dieser Fälle zusätzlich ein thrombotischer Verschuß der A.lienalis an der Anastomosenstelle mit der A.renalis vorlag. Bei allen Thromben handelte es sich um dunkelrote Gerinnungsthorben. Diese Thrombosierung der Milzvene verursachte ein klinisch auffälliges Bild. In allen Fällen, in welchen bei der Sektion oder während der 2.Operation eine massiv vergrößerte, indurierte Milz gesehen wurde, die auf eine Milzvenenthrombose zurückzuführen war, konnte jeweils vorher 1 oder 2 Tage nach der Milztransplantation ein deutlicher, walzenartiger Tumor im Mittelbauch palpiert werden. Außerdem entwickelten die Tiere eine regelrechte Schocksymptomatik, weil die implantierte Milz sich um ein Vielfaches ihrer ursprünglichen Größe ausdehnte (Abb. 39), während das in der Milz "versackte" Blut dem Kreislauf entzogen wurde.

Bei diesen ersten 12 Versuchen bestand die Thrombose-Prophylaxe lediglich in einer Ausspülung der Gefäßstümpfe von A. und V.renales mit Kochsalz-Heparin¹⁾-Lösung (100:1) und in der intraoperativen Infusion von 15g Dextran-Lösung²⁾ während der Milztransplantation. Dieses Vorgehen erwies sich in seiner Wirksamkeit als Thrombose-Prophylaxe nicht als ausreichend.

Erst durch die Einführung der in Kapitel 2.8.2. beschriebenen Thrombose-Prophylaxe, die in der Kombination von Dextran, 'low-dose'-Heparin und Dihydergotamin bestand, konnte im Verlauf der 17 weiteren Versuche diese Komplikation auf 1 Fall begrenzt werden. Die Abb. 40 und die Abb. 41 zeigen den Unter-

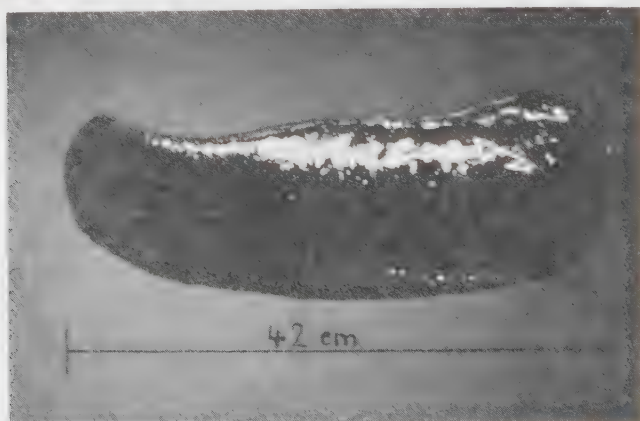


Abb. 39: Gestaute Milz nach thrombotischem Venenverschuß

1) Thrombophob®, Nordmark-Werke GmbH, Hamburg.

2) Makrodex®, 6%, 250ml, Knoll AG, Ludwigshafen.

schied zwischen einer gut und einer ungenügend hämoperfundierten Milz.



Abb. 40
Gut hämoperfundierte Milz, zur Rücktransplantation geeignet.
(Situs von Hund B in der 2. Operation mit allogener Milz von Hund A)



Abb. 41
Ungenügend hämoperfundierte Milz, nicht rücktransplantations-
fähig. (Situs von Hund B in der 2. Operation mit allogener
Milz von Hund A)

An Nebenwirkungen und Komplikationen der Antikoagulantientherapie traten auf:

- 3 Hunde zeigten an den subkutanen Injektionsstellen des Heparins rötlich-blaue Hämatome.
- an 2 Hunden vom Typ B beobachteten wir bei der Wiedereröffnung des Abdomens zur 2.Operation ausgedehnte Wundhämatome aus der 1.Operation (Abb. 42).
- die gewichtigste Komplikation aber bestand in einer erhöhten postoperativen Blutungsneigung, welche an 3 frisch-operierten Hunden beobachtet werden konnte.
- in einem Fall wurde bereits am Operationstag prophylaktisch mit der Heparin-Applikation in der üblichen Dosierung begonnen. Trotz ungestörten Operationsablauf kam es postoperativ zu unbeherrschbaren, diffusen Blutungen mit letalem Ausgang.

3.1.2.2. Akute nekrotisierende Pankreatitis

Während der ersten 7 Experimente (ohne der in Kap. 2.8.1. beschriebenen Pankreatitis-Prophylaxe) trat bei 3 Hunden, die später als Nierenempfänger dienen sollten (Hund A), im Anschluß an die 1.Operation eine akute Pankreatitis auf, welche klinisch diagnostiziert und histologisch bestätigt werden konnte und die in allen 3 Fällen über vitale Komplikationen zum Exitus der Versuchstiere führte.

Nach Einführung der spezifischen Pankreatitis-Prophylaxe trat bei 22 weiteren Versuchen postoperativ im Anschluß an die 1.Operation keine einzige akute, nekrotisierende Pankreatitis bei Hund A mehr auf.

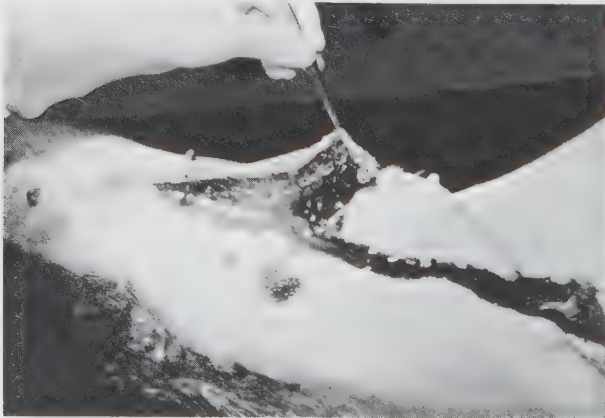


Abb. 42

Wundhämatom bei Hund B nach der 1.Operation

3.1.2.3. Darminvaginationen und letale Narkosekomplikationen

Während der ersten 7 Versuche kam es bei 3 Hunden postoperativ (nach der 1. oder der 2. Operation) zu Darminvaginationen mit letalem Ausgang. In allen drei Fällen hatten die Tiere eine Mononarkose mit Pentobarbital-Natrium erhalten.

Diese Barbiturat-Mononarkosen konnten nur durch wiederholte Nachinjektionen aufrechterhalten werden. Dies führte zu einer Kumulation des Narkotikums, besonders im Fettgewebe, und damit zu einer unerwünschten Verlängerung der Narkosedauer. Die Aufwachphase aller Hunde, an welchen diese Narkoseform angewendet wurde, betrug individuell verschieden zwischen 3 und 6 Stunden, wobei der Endotrachealkatheter erst bei Einsetzen des palatomaxillären Reflexes entfernt werden konnte. In 2 Fällen kam es zu einer schweren medikamentösen Atemdepression, die zum toxisch-azidotischen Hirnschaden führte. Beide Tiere erwachten nach der Operation nicht aus der Narkose und verstarben im Koma. Auch die Applikation eines zentralen Analeptikums (Bemergid) konnte die Lähmung des Atemzentrums durch die Barbituratnarkose nicht durchbrechen.

Nach Einführung der Kombinationsnarkose (Narkoseeinleitung durch Neuroleptanalgesie und Aufrechterhaltung der Narkose durch Lachgas/Halothan) ereignete sich kein letaler Fall einer Darminvagination mehr. Nur noch in einem Fall wurde bei einer Obduktion als Nebenbefund eine beginnende leichte Darminvagination gefunden. Die postoperative Aufwachphase der Hunde wurde drastisch verkürzt. Letale Narkosekomplikationen ereigneten sich nicht mehr.

3.1.2.4. Blutungskomplikationen

Die Anzahl letaler Hämorrhagien erhöhte sich mit der Einführung der Antikoagulantientherapie. In einem Fall war ohne Zweifel die schon intraoperative Verabreichung von Calcium-Heparin, kombiniert mit einem kolloidalen Plasmaexpander, für den Tod des Versuchstieres verantwortlich, weil es zu unberechenbaren diffusen Blutungen kam. Im zweiten Fall lag eine spontane Milzruptur post transplantationem mit ausgeprägtem Hämaskos vor. Es bleibt offen, ob dieser Fall der Antikoagulation angelastet werden kann. Insgesamt mußten in 7 Fällen Bluttransfusionen durchgeführt werden, wobei jeweils zwischen 200 und 750ml Vollblut appliziert wurden. Eine Beeinträchtigung der allogenen Nierentransplantate oder der immunologischen Meßparameter sahen wir nicht.

Vor der Heparin-Applikation war es nur in einem Fall zu Blutungskomplikationen mit letalem Ausgang gekommen.

3.1.3. Senkung der Komplikationsrate

Die experimentelle Milztransplantation beim Hund ist mit einer hohen intra- und postoperativen Komplikationsrate behaftet. Auch bei den hier beschriebenen Versuchen machte diese anfänglich rund 70% aus. Eine adäquate Prophylaxe und Therapie der Hauptkomplikationen als Bestandteil der Methodik in dieser Arbeit ermöglichte es, die Erfolgsquote selbst bei zwei-

maliger Transplantation des Organes entscheidend anzuheben. Abb. 43 stellt die Häufigkeiten der wichtigsten aufgetretenen Komplikationen vor und nach der Einführung der jeweils spezifischen Prophylaxe bzw. Therapie gegenüber.

Die Anwendung einer neuen speziellen Venenplastik erlaubte in 15 Fällen eine erfolgreiche heterotrope Transplantation und Rücktransplantation der Milz am Hund. Bei weitgehender Beherrschung der angeführten Komplikationen läßt sich also konstatieren: Die Versuchsanordnung einer allogenen Milztransplantation beim Hund mit konsekutiver autologer Rücktransplantation der Milz unter gleichzeitiger Introduktion von Transplantationsantigenen als Modell zur Erforschung immunologischer feed-back-Mechanismen ist aus chirurgisch-technischer Sicht durchführbar.

3.2. Beeinflussung der Überlebenszeit des allogenen Nierentransplantates durch die gleichzeitige autologe Milzrücktransplantation

3.2.1. Klinischer Verlauf nach der Nierentransplantation

Die 15 zur Auswertung kommenden Empfängertiere allogener Nierentransplantate schieden innerhalb der ersten 12 Stunden post transplantationem Urin aus.

Klinisch zeigten die Hunde zwischen dem 5. und dem 12. postoperativen Tag nach der Transplantation folgendes Bild. Neben einer bei allen Tieren mehr oder weniger stark ausgeprägten Lethargie und Mattigkeit wurden die Hunde, die nach der 2. Operation primär gut fraßen und tranken, zunehmend appetitlos. 8 Hunde wiesen, beginnend mit dem 6. postoperativen Tag Durchfälle auf, 5 Tiere erbrachen gehäuft.

Im Blutbild ließ sich eine ausgeprägte Leukozytose feststellen, alle Tiere entwickelten gegen Ende ihres Beobachtungszeitraumes zunächst eine Oligo-, später eine Anurie. Die klinisch-chemische Untersuchung des Serums ergab bei allen Tieren eine progrediente Azotämie. Die Serumspiegel von Kreatinin und Harnstoff stiegen in der Beobachtungsphase nach der allogenen Nierentransplantation kontinuierlich an und erreichten, bezogen auf die Normalbereiche, mehrfach überhöhte Werte. Tab. 10 und Abb. 44 zeigen den Anstieg des Serum-Kreatinins tabellarisch und als zeitliche Verlaufskurve, Tab. 11 und Abb. 45 geben in gleicher Weise den Anstieg der Harnstoff-Serumkonzentration wieder.

Im Urinstatus fiel bei allen Hunden in der oligurischen Phase eine ausgeprägte Proteinurie und Hämaturie auf, die Untersuchung des Harnsedimentes ergab in erster Linie eine Häufung von Epithelien und Lymphozytenverklumpungen. Bei 3 Hunden fanden sich zusätzlich vereinzelte Calciumoxalat-, bei 5 anderen Tieren Uratkristalle.

Alle 15 Versuchstiere kamen nach der allogenen Nierentransplantation in einen Zustand der dekompensierten Retention harnpflichtiger Substanzen und entwickelten eine Urämie mit letalem Ausgang.

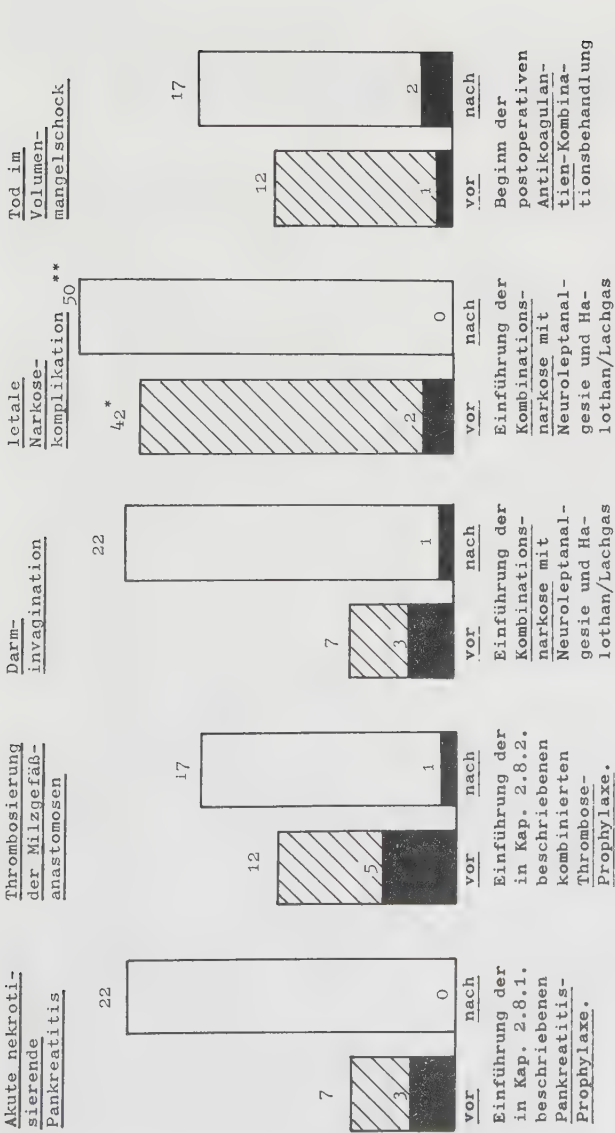


Abb. 43 Häufigkeitsvergleich der aufgetretenen Komplikationen vor und nach Einführung der beschriebenen spezifischen Propylaxe und Therapie (Die Zahlen über den einzelnen Blöcken geben die Anzahl der so durchgeführten Versuche wieder. Die Zahlen in den Blöcken über den schwarzen Feldern entsprechen den dabei aufgetretenen Komplikationen. Eine Abweichung von diesem Schema findet sich nur bei den 'Narkosekomplikationen'. Hier ist die Anzahl der reinen Barbiturnarkosen (*) den Kombinations-Inhalationsnarkosen (**) gegenübergestellt.

Tab. 10

Serum-Kreatinin

Meßwerte für die Versuchsphase nach der 2.Operation.

15 Hunde als Empfänger für ein allogenes Nierentransplantat.

Die Meßwerte werden in mg/100 ml Serum und auf eine Komma-
stelle genau angegeben.

Tage nach der allogenen Nieren transpl. (=2.OP)	Hund Nr. (Δt)*)													
	76 2	261 3	195 4	70 4	200 4	254 3	97 2	462 3	468 3	334 2	184 2	236 4	424 4	467 2
1. postop. Tag	3,6	3,5	4,0	2,4	3,2	2,8	3,0	2,9	2,7	2,6	1,8	2,5	1,9	1,8
2. postop. Tag	5,2	4,9	4,5	3,6	4,3	3,9	4,2	3,2	3,8	3,1	3,5	3,7	2,2	2,5
3. postop. Tag	6,9	7,3	7,2	6,7	6,8	6,1	5,9	5,3	5,7	5,1	5,5	4,4	4,0	3,2
4. postop. Tag	9,3	9,4	9,0	8,5	8,7	8,2	7,9	6,1	6,5	6,1	6,2	5,1	5,9	5,4
5. postop. Tag	11,9	11,5	11,9	11,9	11,4	11,0	10,8	9,8	10,4	9,6	10,2	9,2	8,7	9,1
6. postop. Tag			13,0		12,8	13,0	12,7	12,1	12,8	10,7	12,4	10,4	7,0	10,1
7. postop. Tag					13,6	13,5		13,5	13,4	13,3	8,4	12,9	10,8	11,5
8. postop. Tag							14,2	14,0	14,3	13,8	11,7	11,3	12,8	13,2
9. postop. Tag										17,5	16,5	17,1	13,9	13,0
10. postop. Tag											18,0	18,5	14,5	17,9
11. postop. Tag													18,2	17,5
12. postop. Tag														18,5

*) Δt bedeutet: die Zahlen unter den Nummern der Hunde geben den Zeitabstand zwischen
1. und 2. Operation wieder.

Tab. 11

Serum-Harnstoff

Meßwerte für die Versuchsphase nach der 2. Operation.

15 Hunde als Empfänger für ein allogenies Nierentransplantat.

Die Meßwerte werden in mg/100ml Serum angegeben und wurden auf eine Stelle vor dem Komma auf- bzw. abgerundet.

Hund Nr. (Δt *)															
Tage nach der allogenen Nieren transpl. (=2.OP)	76 2	261 3	195 4	70 4	200 4	254 3	97 2	462 3	468 3	334 2	2 2	184 3	236 4	424 4	467 2
1. postop. Tag	26	35	30	33	27	30	32	27	31	30	34	33	25	28	29
2. postop. Tag	46	50	35	41	35	30	42	33	37	31	39	37	28	36	22
3. postop. Tag	90	71	52	57	53	44	75	69	56	48	70	55	41	40	50
4. postop. Tag	126	130	97	92	79	67	109	120	84	73	103	50	56	72	62
5. postop. Tag	139	136	150	143	147	83	131	135	108	95	122	99	70	87	80
6. postop. Tag				161	190	152	136	143	100	93	119	94	75	84	77
7. postop. Tag						200	167	180	157	144	166	153	143	130	110
8. postop. Tag							215	223	230	207	200	170	193	185	177
9. postop. Tag										266	250	209	198	187	180
10. postop. Tag											280	273	220	272	230
11. postop. Tag													275	290	260
12. postop. Tag															300

*) Δt bedeutet: die Zahlen unter den Nummern der Hunde geben den Zeitabstand zwischen 1. und 2. Operation wieder.

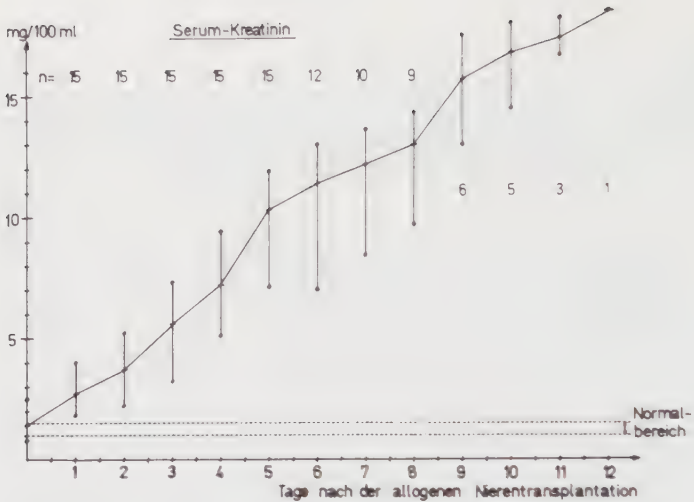


Abb. 44

Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration in Hund A nach der allogenen Nierentransplantation. Die Abnahme der Fallzahlen (n) erklärt sich aus der unterschiedlich langen Überlebenszeit der Hunde im Anschluß an die 2. Operation.

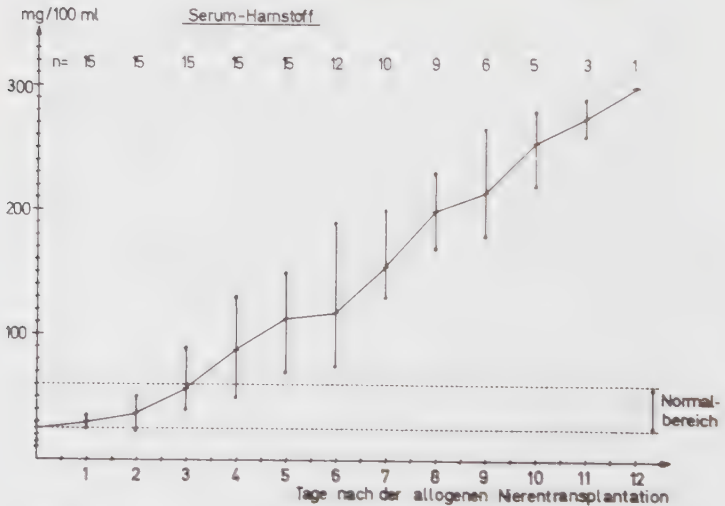


Abb. 45

Anstieg der Serum-Harnstoff-Konzentration in Hund A nach der allogenen Nierentransplantation.

3.2.2. Überlebenszeiten der allogenen Nierentransplantate

In allen 15 Fällen, bei welchen auf die autologe Milztransplantation eine allogene Nierentransplantation folgte und die Empfängerhunde 5 Tage oder länger überlebten, trat eine Nierenabstoßung in gleicher Weise ein wie bei Kontrolluntersuchungen ohne Milztransplantation. Die durchschnittliche Überlebenszeit aller 15 allogenen Nierentransplantate belief sich auf 8,1 Tagen. Als Vergleichswerte dienten die Allotransplantatüberlebenszeiten bei Hundenieren ohne Anwendung von Immunsuppressiva und Cortison aller Arbeitsgruppen am Institut für Chirurgische Forschung, München im Laufe der letzten 10 Jahre (durchschnittliche Überlebenszeiten: 8-10 Tage) und Werte aus der Literatur (9,4 Tage in 50). Auch zwischen den einzelnen Versuchsreihen mit 2-, 3- oder 4-tägigem Abstand zwischen beiden Operationen gab es keine statistisch auffälligen Unterschiede in der Transplantatüberlebenszeit. Tab. 12 und Abb. 46 zeigen die individuellen Überlebenszeiten aller Versuchstiere der drei Versuchsgruppen.

Tab. 12		
Überlebenszeiten der Hunde (Hund A) nach allogener Nierentransplantation verbunden mit autologer Milzrücktransplantation		
Zeitintervall Δt zwischen 1. und 2. Operation	Allotransplantatüberlebenszeiten (in Tagen)	durchschnittliche Allotransplantatüberlebenszeit (in Tagen)
$\Delta t = 2$	12,10,9,8,5,	8,8
$\Delta t = 3$	10,8,8,7,5,	7,6
$\Delta t = 4$	11,11,6,6,5,	7,8

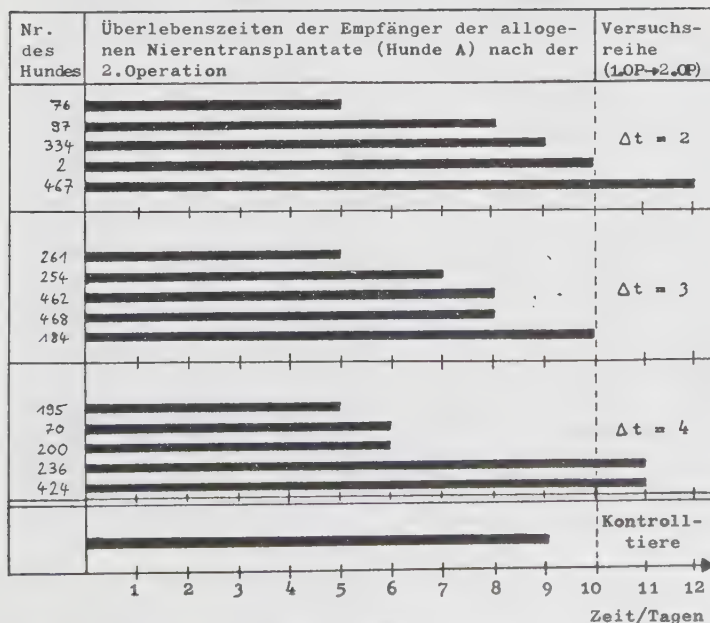


Abb. 46 Überlebenszeiten der Empfängerhunde

3.3. Makro- und histopathologische Ergebnisse

3.3.1. Milz

3.3.1.1. Befunde bei den Sektionen

A) Organe mit thrombotischem Verschuß der Milzvenenanastomose: Abb. 39 vermittelt einen Eindruck vom makroskopischen Zustand dieser Organe.

In 3 Fällen war sowohl die venöse wie auch die arterielle Anastomose durch Thromben verschlossen, in 2 Fällen war nur die Milzvenenanastomose thrombotisch verschlossen. Diese Milzen waren massiv gestaut und sehr stark vergrößert (teilweise bis zu 3-4fache Ausgangsgröße vor der Transplantation).

Abmessungen: Länge: 35 bis 40cm (durchschnittlich: 37,6cm)

Breite: 15 bis 20cm (durchschnittlich: 17,5cm)

Höhe: 7 bis 13cm (durchschnittlich: 10,0cm)

Gewicht: 763,6g bis 1069,0g (durchschnittlich: 830,8g).

Oberfläche: Die Milzkapsel war glatt, derb gespannt und leicht einreißbar. Margo lateralis und margo medialis der Milz waren geschwollen und verbreitert. Die Farbe variierte zwischen dunkelrot und dunkelblau, teilweise unterbrochen durch tief-schwarze Regionen. Die Konsistenz war prall elastisch und induriert. Im verhärteten Organ ließen sich mit einem Finger Druckstellen erzeugen, die sich nicht zurückbildeten. Die Schnittfläche zeigte eine massive venöse Hyperämie. Das Pulpa-gewebe quoll fast fließend nach Einscheiden des Organes aus der Kapsel hervor und ließ sich leicht mit dem Messer abstreifen. Zwischen z.T. sehr großen Milzfollikeln waren multiple, verschieden große Milzinfarakte zu erkennen.

Bewertung: hämorrhagisch infarzierte Milzen nach Thrombose der V.lienalis.

B) Organe mit durchgängigen Anastomosen ohne Thromben:

Arterielle und venöse Anastomosen zeigten bei diesen Organen freie Durchgängigkeit ohne wandständige Thromben im Gefäßlumen.

Abmessungen: Länge: 15 bis 31cm (durchschnittlich: 25,0cm)

Breite: 6 bis 17cm (durchschnittlich: 12,2cm)

Höhe: 3 bis 5cm (durchschnittlich: 4,4cm).

Gewicht: 192,7g bis 546,8 g (durchschnittlich: 308,2g).

Die Organoberfläche war bisweilen knotig bis höckerig, vor dem 13.Experiment (= Beginn der Applikation von 'low-dose'-Heparin und DHE) waren hin und wieder einige haselnußgroße infarzierte Herde mit Nekrosen zu erkennen. In einem Fall (Hund No. 467) war die Milzkapsel weiß und von zuckergußähnlichem Aussehen. Diese Substanz bedeckte die Milz etwa zu einem Drittel der Oberfläche und war nicht abwischt- oder abstreifbar. Die Farbe der Milz wechselte zwischen einem hell- und einem dunkelroten Ton fleckenförmig über die ganze Oberfläche. Die Konsistenz war nur leicht verfestigt. Auf der Schnittfläche durch das Organ vom margo lateralis aus nach innen fanden sich disseminierte, dunkelrote, erbsengroße Knötchen, dazwischen weißliche reiskorngroße Knötchen (Abb. 47). Nach Einführung der Antikoagulation fanden sich in keiner Milz mehr makroskopische Anzeichen von Nekrosen. Je nachdem, ob die Milz von Hund A 2, 3 oder 4 Tage an den Kreislauf von Hund B angeschlossen war, konnte proportional mit der Zeit eine zunehmend farbliche Ver-

dunklung der Schnittfläche durch die rote Pulpa festgestellt werden.

Bewertung: Pulpöse Hyperämie der Milz mit sehr großen Follikeln.

3.3.1.2. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

A) Normalmilzen zum Vergleich: Die Schnittstufen durch die Organproben zeigten den regelrechten Organaufbau einer Speichermilz. Die Pulpa zeigte eine mäßige Hyperämie in den Sinus, mit mäßig vielen Lymphozyten und gelegentlichen Granulozyten. Außerdem fanden sich in der Pulpa zahlreiche blastenartige Zellen. Das kräftige und unauffällige Trabekelgerüst zeigte einen regelrechten Aufbau. Die Lymphfollikel waren locker verteilt, zahlreich, mäßig-groß bis groß, besaßen einen peripheren Randsaum aus kleinen Lymphozyten, viele deutliche Keimzentren mit reichlich Germinoblasten und in 2 Fällen mit Kerntrümmerphagozytose. Die Follikel waren scharf zur roten Pulpa abgegrenzt. Plasmazellen waren entweder gar nicht oder nur sehr vereinzelt zu finden.

B) Milzen mit thrombotischen Verschuß der Gefäßanastomosen:

Die Organstruktur ließ ein teilweise oder völlig zerstörtes Trabekelwerk erkennen, das nur noch andeutungsweise erhalten war. Die Sinus waren prall und erweitert und z.T. mit autolytisch veränderten Erythrozyten gefüllt. Die Eisenfärbung zeigte in den Retikulumzellen herdförmige Hämosiderinablagerungen. Follikel waren nur noch vereinzelt und spärlich erkennbar, meist partiell nekrotisch. Die rote Pulpa zeigte eine hochgradige Hyperämie, war prall mit Erythrozyten angescoppt, insgesamt aber zellverarmt. Die großen venösen Gefäße waren durch frisches, geschichtetes, thrombotisches Material ausgefüllt. Die Gefäßwände zeigten keinerlei zelluläre Infiltrate.

Bewertung: Die vorliegenden Befunde entsprechen hämorrhagisch infarzierten Milzen ohne Anzeichen immunologischer Abstoßungsreaktionen. Nach frischem thrombotischen Verschuß der Milzvene zeigte sich eine akute venöse Hyperämie und eine Totalnekrose des Organes.

C) Milzen mit durchgängigen Anastomosen ohne thrombotischen

Verschuß: Die Milzkapseln waren verdickt und enthielten dichtes Granulationsgewebe mit Granulozyten. Auch subkapsulär fanden sich erhebliche granulozytäre Reaktionen. Schnittstufen durch die Organe zeigten eine starke Blutfüllung. Bei den ersten 12 Versuchen fanden sich in der Milz auch mehrfach größere und kleinere, unregelmäßig angeordnete, scharf abgegrenzte und weitgehend zellfreie nekrotische Bezirke. Teilweise zeigten diese kleineren hämorrhagisch infarzierten Abschnitte eine beginnende Demarkierung mit randständiger, granulozytärer Abräumung. Zum weit überwiegenden Teil aber fanden sich erhaltene Milzgerüste mit intakten Milztrabekeln. Die Sinus enthielten vermehrt Granulozyten und Plasmazellen. In den erhaltenen Abschnitten waren die Follikel zahlreich und deutlich vergrößert ausgebildet. Meist fanden sich hyperplastische, vergrößerte Follikel mit Keimzentren. Dagegen waren

in infarzierten und demarktierten Abschnitten keine Follikel mehr enthalten oder aber nur als Reste um die Pulpaarterien angeordnet. Runde, scharf umschriebene Follikel, wie im normalen Milzbefund vorhanden, waren bei den Transplantatmilzen selten. Meist waren die Follikel relativ unregelmäßig verteilt, deformiert und auffällig unscharf von der umgebenden Pulpa abgegrenzt. Abb. 49 zeigt einen solchen Follikel im Vergleich zum Follikel einer normalen Milz (Abb. 50). Die Follikel wiesen außerdem zahlreiche Lymphozyten und plasmazytoide Zellen auf (Abb. 48), wobei z.T. auch zahlreiche Mitosen zu beobachten waren (Abb. 51 und Abb. 52). Die T- und B-Zellregionen waren besiedelt. Die rote Pulpa zeigte nur abschnittsweise eine Hyperämie mit Erythrozytenanschoppungen. Sie war eher zellarm, gelegentlich waren vermehrt Granulozyten zu finden. Die Eisenfärbung zeigte gelegentlich grobkörnige Pigmentablagerungen (Hämosiderin). Keimzentren waren nicht nachweisbar. Eine vermehrte entzündliche Infiltration der Gefäßwände konnte nicht festgestellt werden.

Schnitte durch die Anastomosen in Längsrichtung bestätigten die freie Durchgängigkeit. Einmal fand sich ein kleiner, aber nicht stenosierender Abscheidungsthrombus. Hin und wieder zeigte die Gefäßwand in der Umgebung der Naht frische, umschriebene, entzündliche Reaktionen. In einem Fall war an der arteriellen Anastomose eine frischere Blutung in die Adventitia zu erkennen.

Bewertung: Die langsame Atrophie der Milzfollikel schritt mit der Implantationsdauer der Milz im Fremdorganismus (Hund B) fort, die Keimzentren schwanden. Eine besondere Verarmung der T-Zellregionen konnte nicht festgestellt werden. Die noch vorhandenen Milzfollikel waren relativ groß und unregelmäßig abgegrenzt. Gefäßwandveränderungen im Sinne einer Immunvaskulitis waren nicht zu erkennen.

D) Histologischer Befund einer nach 6 Tagen aus Hund B explantierten Milz: Schnittstufen durch die Milzstücke zeigten einen weitgehend unauffälligen Organaufbau, sämtliche Strukturen waren erhalten. Die rote Pulpa ließ eine starke Blutfülle erkennen, gelegentlich wurden auch vermehrt Granulozyten gesehen. Einzelne disseminierte, nicht mehr ganz frische Infarkte waren schon weitgehend abgeräumt und locker von Granulozyten infiltriert. Milzfollikel waren relativ zahlreich vorhanden, erschienen regelmäßig angeordnet und waren scharf begrenzt. Keimzentren waren nicht zu erkennen. Innerhalb der Lymphfollikel fiel eine starke Plasmazellvermehrung auf, teils locker verstreut, teils dichter umschriebene Ansammlungen. Der Anteil dieser Plasmazellen in den Lymphfollikeln betrug stellenweise bis zu 30%. Vereinzelt waren Mitosen erkennbar. Auffällig waren auch innerhalb der Follikel relativ große Anteile an kleinen Lymphozyten, von denen manche auffällig in Haufen angeordnet waren.

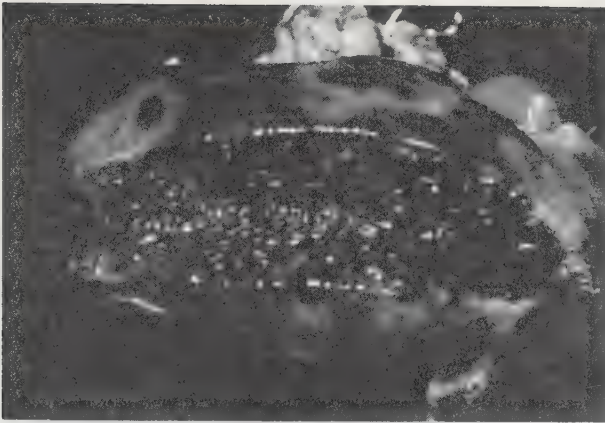


Abb. 47
Milz: große Follikel und pulpöse Hyperämie

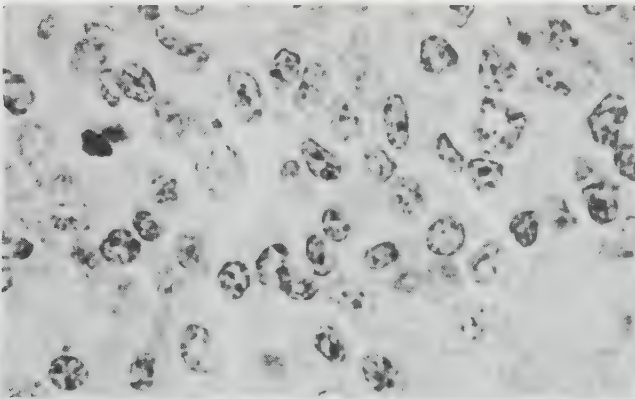


Abb. 48
Milz, Plasmazytoide Zellen, H.E.-Färbung, 1250-fache
Vergrößerung



Abb. 49

Milz: Vergrößerte Follikel mit verschwommenen Konturen.
H.E.-Färbung, 50-fache Vergrößerung.

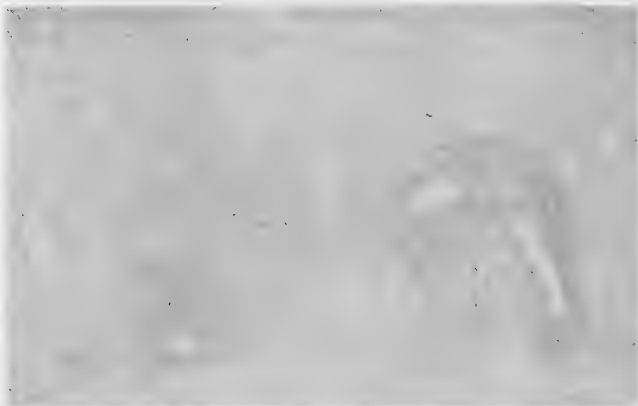


Abb. 50

Milz: Regelrechter Organaufbau einer normalen Milz, Pulpa,
normal große Follikel. H.E.-Färbung, 50-fache Vergrößerung.

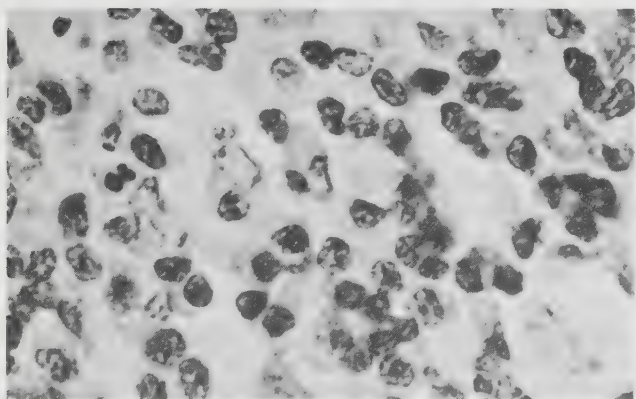
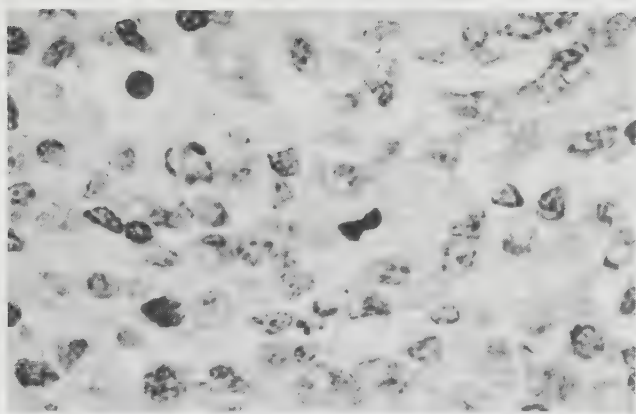


Abb. 51 und Abb. 52
Milz: Mitosen in den Follikelzentren
H.E.-Färbung, 1250-fache Vergrößerung

3.3.2. Niere

Im folgenden werden die makroskopischen und die histologischen Befunde an den Nieren jener Versuchstiere zusammengefaßt, welche nach der allogenen Nierentransplantation in der Urämie verstarben.

3.3.2.1. Befunde bei den Sektionen

Alle transplantierten Nieren zeigten eine massive Größenzunahme. Abmessungen: Länge: 8,5 bis 13,0cm,
Breite: 5,0 bis 8,0cm,
Höhe: 5,5 bis 7,0cm.

Gewicht: auch hier zeigte sich eine starke Zunahme und ödematöse Schwellung der Organe. Das Gewicht der allogenen Transplantate variierte bei Entnahme zwischen 89,6g und 299,5g, während die Gewichte der kontralateralen Nieren von Hund B, welche bei der 1. Operation entnommen wurden, zwischen 48,6g und 118,7g lagen. Es ergaben sich insgesamt Gewichtszunahmen zwischen 98 und 211%, bezogen auf die jeweiligen Ausgangsgewichte der kontralateralen B-Nieren.

Die Farbe der Organe zeigte eine bunte Palette zwischen bläulich-schwarz und düster-dunkelrot (Abb. 53).

Die Organoberfläche zeigte fleckig-hämorrhagische Rindennekrosen, wobei vereinzelt subkapsulär feinstreifige Hämorrhagien auftraten. Die Organkonsistenz war unter der Kapsel weich bis schleimig, wobei die teilweise verdickte Kapsel insgesamt leicht abziehbar war. Auf der Schnittfläche durch das Organ stellten sich Rinde und Parenchym hellviolett und düster-undersichtig dar. In wenigen Fällen war der Farbton der Schnittfläche auch rötlich-grau und die Konsistenz gallertig. Die Mark-Rinden-Grenze verlief relativ unscharf, wobei das Mark sich deutlich dunkler darstellte (Abb. 54). In einem Fall fanden sich in den calices renales reiskorngroße, weiche, dottergelbe Flocken.

Die End-zu-Seit-Gefäßanastomosen zwischen A. und V. renales und A. und V. iliaca ext. waren in allen Fällen frei durchgängig, ebenso wie die Ureter-Blasen-Anastomose. In 4 Fällen wurden im Bereich der Gefäßanastomosen kleinere Ansammlungen von cruor gefunden, welche aber keinen Anlaß für eine Gefäßkompression geben konnten.

Eine praeoperative Schädigung der Transplantatnieren konnte ausgeschlossen werden, da auf eine ausreichende Kühlung der Nieren vor und während der Transplantation und auf eine möglichst kurze Ischämiezeit der Organe geachtet wurde.

3.3.2.2. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

In der Übersicht stellten sich Nierenmark und Nierenrinde in der üblichen Breite dar. Die Organproben zeigten bisweilen deutliche Anzeichen einer Mangeldurchblutung. In umschriebenen Abschnitten waren kaum noch Zellkerne erhalten, oder die wenigen vorhandenen waren pyknotisch.

In der weit überwiegenden Zahl von Fällen waren die Glomerula unauffällig. Bei zwei Hunden mit je 11 Tagen Überlebenszeit fanden sich vereinzelt neutrophile Granulozyten und Fibrin-

thromben. An den Tubuli waren ischämische Schwellung der Epithelien und herdförmige Nekrosen der häufigste Befund. Teilweise waren die Tubuli ektatisch und wiesen ein hydropisch geschwollenes Epithel auf. Gelegentlich fanden sich im Tubuluslumen Protein-, Hämoglobin- und auch granulierten Zylinder. In den allermeisten Fällen (13) bestand ein z.T. erhebliches interstitielles Ödem. In allen Fällen wies das ödematös aufgequollene Interstitium, besonders in der Umgebung von Gefäßen, eine herdförmig dichte Infiltration von rundkernigen lymphatischen Zellen, von kleinen Lymphozyten, Plasmazellen und auch von segmentierten Granulozyten auf.

An den Gefäßen fand sich stellenweise eine zelluläre entzündliche Reaktion. Dabei imponierten perivaskulär besonders dichte, aktivierte Lymphozyteninfiltrate, sowie Granulozyten- und Plasmazellinfiltrate. Bei besonders akut verlaufenden Abstoßungsreaktionen fand sich in Nierenarterien und -arteriolen ein auffälliges Intimaödem. Die Gefäße waren teilweise oder vollständig thrombosiert, wiesen fibrinoide Nekrosen auf und waren teilweise vom Lumen her organisiert. Besonders im Bereich der Mark-Rinden-Grenze fielen Gefäßveränderungen der Vasa afferentia auf (Abb. 55 und Abb. 56). Stellenweise zeigten sich Abschnitte mit Hämorrhagien und Nekrosen, mit beginnenden granulozytären Abräumungsreaktionen in den Randbereichen. Um Bezirke subkapsulärer Demarkation bildete sich ein breiter Saum von Granulationsgewebe mit dichter Infiltration von segmentierten Granulozyten.

Besonders lange funktionsfähige Transplantate (10-12 Tage) wiesen ausgedehnte konfluierende Nierenrindennekrosen und teilweise subtotale Parenchymnekrosen auf.

Bewertung: In allen beschriebenen 15 Fällen lag eine massive, akute Transplantatvaskulopathie vor. Die mittelschweren und schweren, zellulären und humoralen Transplantatreaktionen, waren deutlich perivaskulär, aber auch interstitiell lokalisiert. In einigen Fällen lag bereits der Zustand einer Totalnekrose, oder zumindest einer umschriebenen Nekrose des Transplantates vor.

3.4. Immunbiologische Ergebnisse

In den Seren der Versuchshunde, welche gegen Schaf- (SRBC) oder Pferdeerythrozyten (HRBC) immunisiert worden waren, waren sowohl hämagglutinierende als auch hämolysierende Antikörper gegen diese xenogenen Erythrozyten nachweisbar.

Spätestens am 3. Immunisierungstag konnte auch eine deutlich tastbare Vergrößerung jenes Lymphknotens (N. lymphaticus popliteus) festgestellt werden, in den ebenfalls eine dreimalige Antigenapplikation erfolgte.

Im folgenden geben Tabellen und Abbildungen den zeitlichen Verlauf der Antikörperproduktion gegen SRBC bzw. HRBC bei Empfänger- und Spendertier wieder.

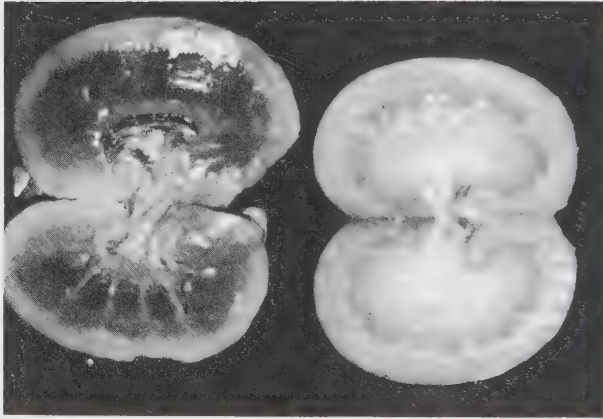


Abb. 53

Links: düster-dunkelrot verfärbte, abgestoßene Niere.
rechts: Normalniere zum Vergleich.

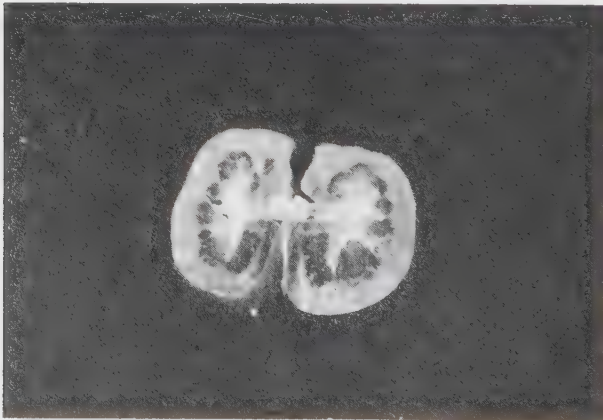


Abb. 54

Abgestoßene Niere: farblich dunkel abgesetztes Nierenmark,
unscharf verlaufende Mark-Rinden-Grenze.

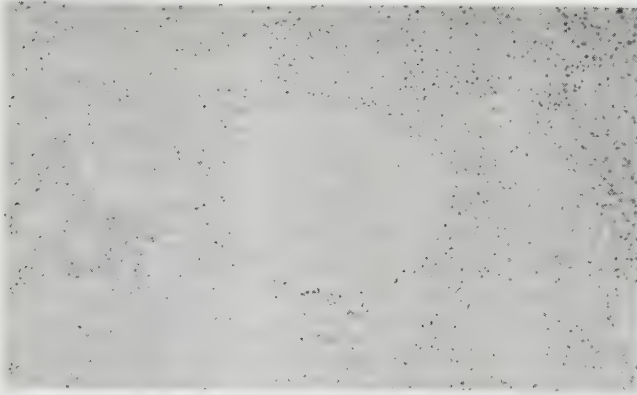


Abb. 55

Niere: arterieller Verschuß mit perivaskulär entzündlicher Reaktion, Transplantatvaskulopathie.

H.E.-Färbung, 125-fache Vergrößerung.



Abb. 56

Niere: arterieller Verschuß, Gefäßwandproliferation und Intimaverquellung.

H.E.-Färbung, 125-fache Vergrößerung.

3.4.1. Titerverlauf an hämagglutinierenden Antikörpern

Abb. 57 zeigt die Bildung hämagglutinierender Antikörper im Serum der potentiellen Spenderhunde (Hund B). Die Wertetabelle, welche den beiden schematischen Darstellungen zugrunde liegt, ist unter Tab. 13 zu finden.

Die obere Titerverlaufskurve in Abb. 57 zeigt den kontinuierlichen Anstieg von Anti-SRBC-Antikörpern nach dreimaliger Immunisierung von Hund B gegen SRBC am 7., 5. und 3. praeoperativen Tag vor der 1.Operation. Der Abfall des Antikörpertiters nach der 1.Operation läßt sich durch die intraoperativ vorgenommene Hämodilution erklären.

Die untere Kurve in Abb. 57 läßt erkennen, daß Hund B in der Phase nach der 1.Operation einen deutlich ansteigenden Titer an anti-HRBC-Antikörpern entwickelt, obgleich Hund B lediglich gegen SRBC vorimmunisiert wurde. Diese anti-HRBC-Antikörper müssen wohl aus der von Hund A nach Hund B transplantierten Milz stammen. Die abnehmenden Fallzahlen (n) zwischen 2. und 4.postoperativen Tag rühren von der Tatsache, daß je nach Versuchsreihe eine unterschiedlich lange Verweildauer für die allogene Milz im Organismus von Hund B gewählt wurde. Es zeigt sich aber eine deutliche Proportionalität zwischen Titerhöhe und Milzverweildauer in Hund B. Ein Hund B behielt das allogene Milztransplantat über einen Zeitraum von 6 Tagen, weil der zugehörige Empfängerhund vor der Milzrücktransplantation verstarb. Der anti-HRBC-Antikörpertiter lag bei diesem Tier ab dem 3.postoperativen Tag nur noch an der oberen Grenze unseres Meßbereiches. Auffallend ist die große Varianz der Meßwerte in der postoperativen Phase. Sie läßt sich dadurch erklären, daß die Anstiegsgeschwindigkeit des Antikörpertiters mit dem Perfusionszustand des allogenen Milztransplantates korrelierte, welcher individuell sehr unterschiedlich war.

Abb. 58 und Abb. 59 geben die Bildung hämagglutinierender Antikörper im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A) wieder. Abb. 58 zeigt zunächst den Anstieg eines anti-HRBC-Antikörpertiters nach dreimaliger Immunisierung von Hund A gegen HRBC am 7., 5. und 3.praeoperativen Tag vor der 1.Operation. Tab. 14 enthält die beiden Kurven für Hund A (Abb. 58 und Abb. 59) zugrunde liegenden Meßwerte. Da bei Hund A der Tag der 2.Operation als Fixpunkt gesetzt wurde, variieren sowohl die Immunisierungstage als auch der 1.Operationstag innerhalb eines zweitägigen Zeitintervalls, da ja der Abstand zwischen beiden Operationen zwischen 2 und 4 Tagen variierte. Der Abbruch des Antikörpertiters am Tag nach der 2.Operation ist höchstwahrscheinlich operationsbedingt (Blutverlust!). Mit in diese Kurve aufgenommen sind auch Tiere, an welchen es zur Rücktransplantation ihrer eigenen Milz nicht mehr kam, weil der potentielle Spenderhund B (mit der Milz von A) vorzeitig verstarb. Die geringelten Einzelwerte ganz rechts in der Skizze zeigen später gemessene Antikörpertiter bei diesen Hunden.

Aus Abb. 59 kann die Entwicklung eines anti-SRBC-Antikörpertiters bei Hund A ersehen werden. Hund A wird, wie bekannt, bei der 1.Operation splenektomiert, seine Milz wird allogon für 2 bis 4 Tage in Hund B transplantiert, kommt aber bei der 2.Operation wieder in Hund A zurück. Vom Zeitpunkt der 2.Operation an ist nun ein deutlicher Anstieg an anti-SRBC-Antikör-

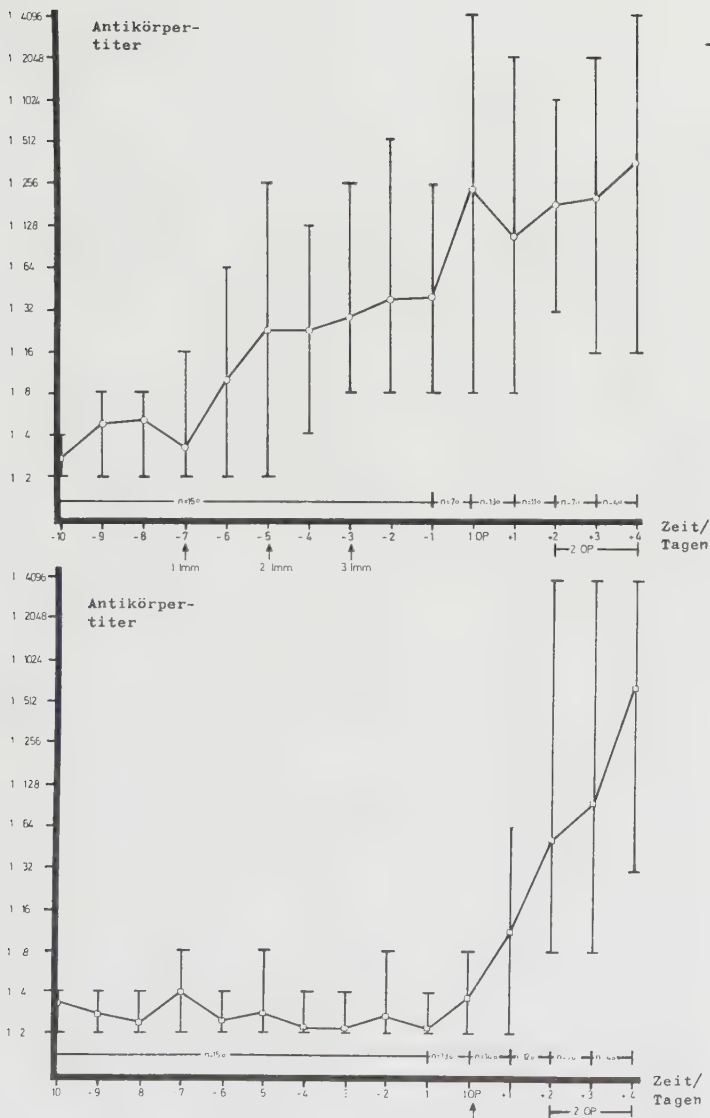


Abb. 57

Bildung hämagglutinierender Antikörper im Serum der potentiellen Spenderhunde (Hund B)

oben: Bildung hämagglutinierender Antikörper gegen SRBC nach dreimaliger Immunisierung (Imm.) gegen SRBC.

unten: Entwicklung eines Titers an hämagglutinierenden Antikörpern gegen HRBC nach Erhalt einer allogenen Milz von Hund A in der 1. Operation.

Auf der Abszisse ist linear die Zeit vor und nach der 1. Operation aufgetragen, die Ordinate gibt in duallogarithmischem Maßstab die Titerverdunstufen (Mittelwerte und Varianzen) des Serums wieder.

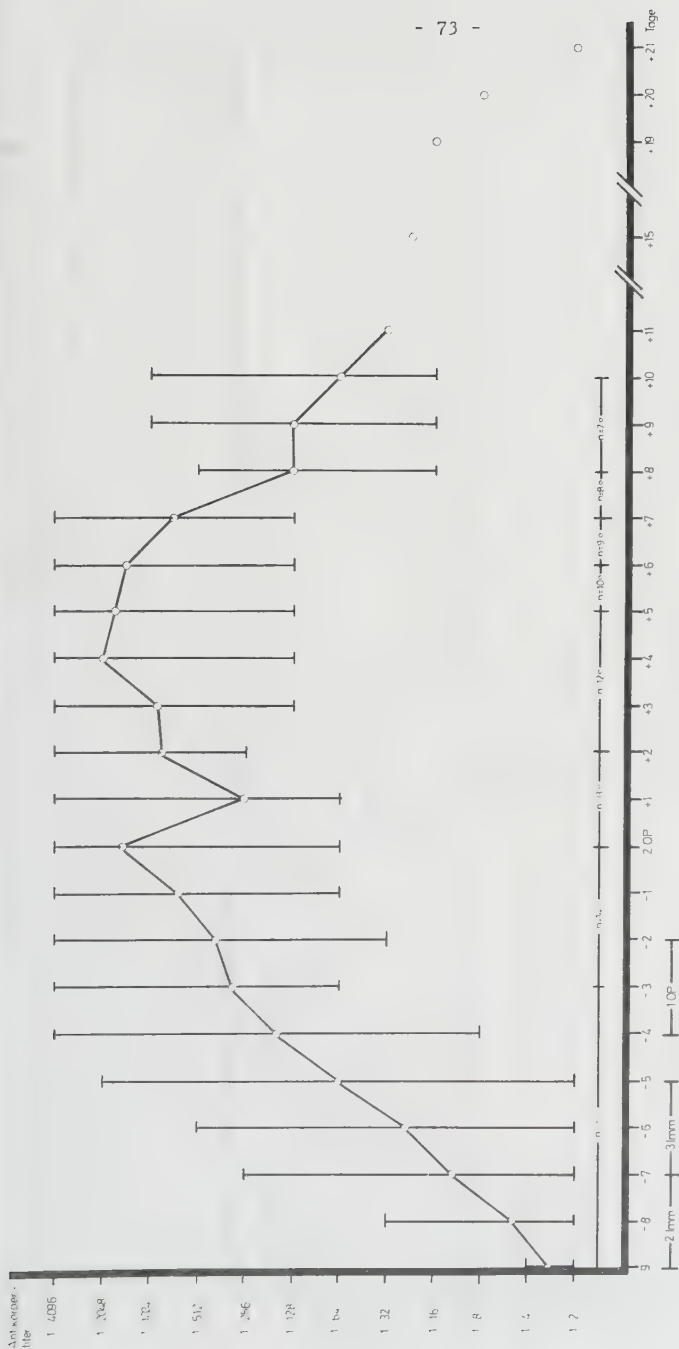


Abb. 58

Bildung hämagglutinierender Antikörper im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A) gegen HRBC, nach 3-maliger Immunisierung (Imm.) mit HRBC.
 Abszisse: lineare Zeitachse vor und nach der 2. Operation.
 Ordinate: Verdünnungsstufen (Mittelwerte und Variationsbreiten) des Serum-titers in duallogarithmischem Maßstab.

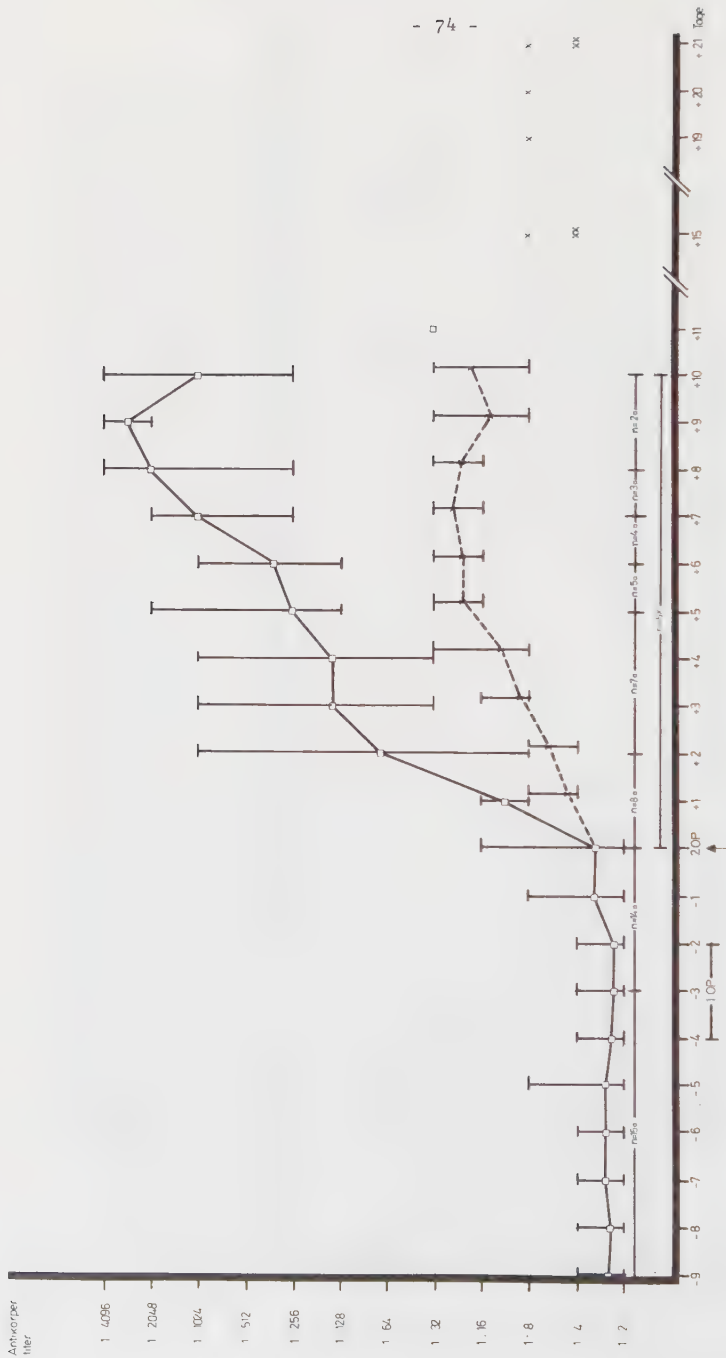


Abb. 59

Entwicklung eines Titors hämagglutinierender Antikörper gegen SRBC im Serum der potentiellen Empfängerhunde nach Rücktransplantation der autologen Milz bei der 2. Operation.

Abszisse: lineare Zeitachse vor und nach der 2. Operation.

Ordinate: Verdünnungsstufen des Serum-titers in duallogarithmischem Maßstab (Mittelwerte und Variationsbreiten). durchgezogene Linie nach der 2. Operation: Hunde mit rücktransplantiertem autologer Milz. gestrichelte Linie: splenektomierte Versuchstiere, bei denen keine autologe Milzrücktransplantation erfolgte.

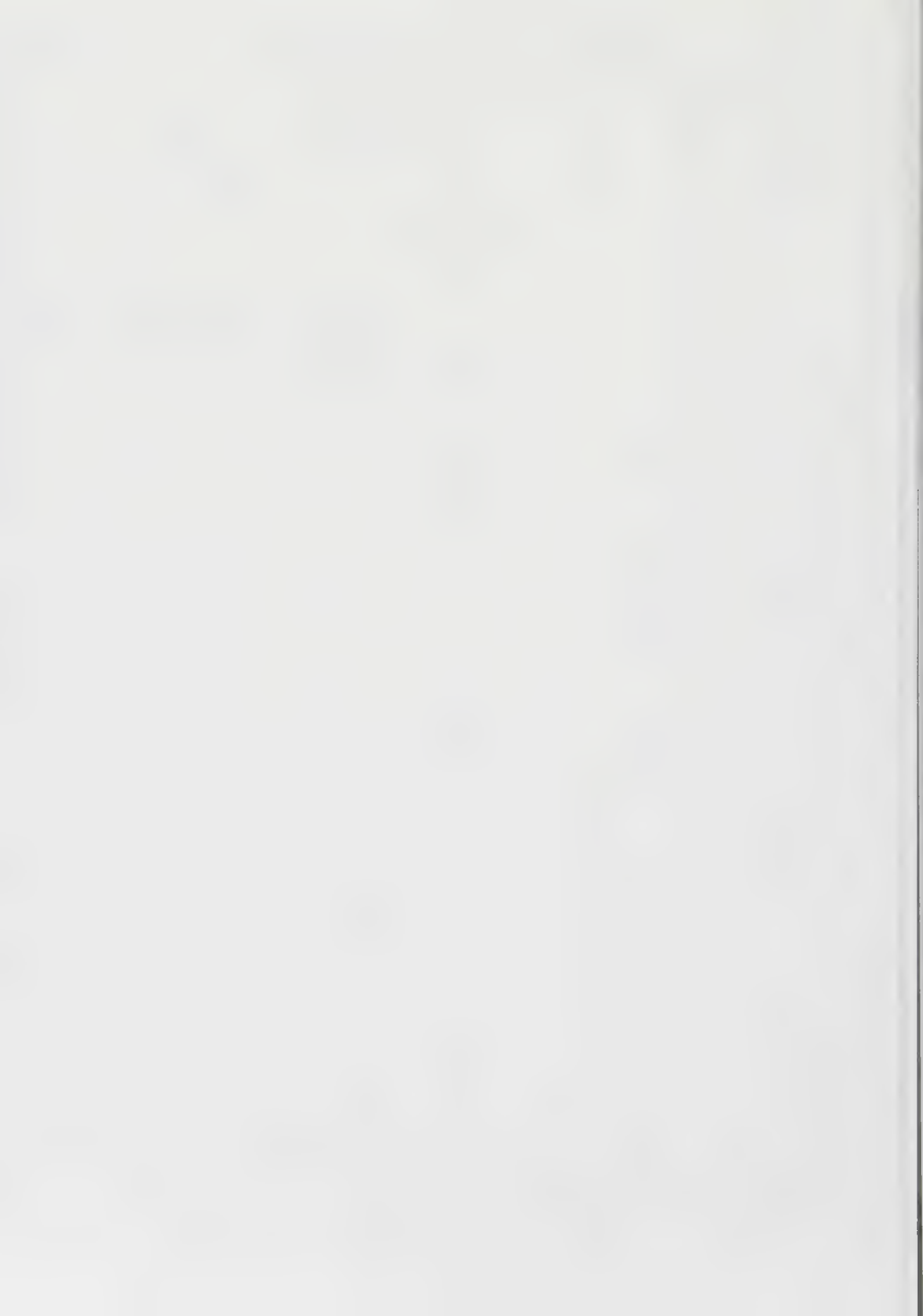
Tab. 14

Bildung hämagglutinierender Antikörper im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A)

In jedem einzelnen Kästchen gibt der obere Wert den Titer an hämagglutinierenden Antikörpern gegen HRBC, der untere Wert den gegen SRBC wieder. X bedeutet, daß der betreffende Hund an diesem Tag verstarb, während bei dem Zeichen --- von diesem Tag kein Meßwert vorliegt, obgleich das Versuchstier noch am Leben war.

In der 2. vertikalen Spalte stehen die Fallzahlen für die Antikörper-Mittelwerte, welche in der letzten vertikalen Spalte zu finden sind. n ist die Fallzahl für Hunde, die gegen HRBC immunisiert wurden und einen entsprechenden Antikörper zu entwickeln, n₁ gibt als Untergruppe von n diejenigen immunisierten Hunde an, an denen es zur Rücktransplantation ihrer autologen Milz kam. Nur diese Hunde konnten einen Antikörper gegen SRBC entwickeln, wogegen unter n₂ nur jene Hunde erfaßt sind, bei welchen es zur Rücktransplantation ihrer autologen Milz nicht kam, da der zugehörige Spenderhund (Hund B) vorher verstarb. Diese Tiere sind mit einem * über ihrer Tiernummer gekennzeichnet. (n = n₁ + n₂). Die Werte in der Tabelle sind als Verdünnungstiter 1:.... angegeben. Dagegen geben die Mittelwerte (letzte Spalte) die entsprechenden logarithmischen Werte für die Kurve an.

Fall- zahl		Nummern der immunisierten Empfängerhunde															Mittel- wert	
Tag	n n ₁ n ₂	263	254	236	195	105	178	200	156	158	168	221	184	261	97	414	a-HRBC a-SRBC	
- 9	15 10 5	2	8	8	2	2	4	2	2	2	2	2	2	-	4	4	1,5	
- 8	15 10 5	4	8	8	2	2	8	8	8	4	4	4	8	2	2	32	2,33	
- 7	15 10 5	8	32	32	2	2	32	16	16	8	8	8	32	2	8	256	3,6	
- 6	15 10 5	4	128	128	-	2	32	32	32	4	8	8	256	4	32	512	4,57	
- 5	15 10 5	4	1024	512	32	2	64	64	64	-	16	16	1024	8	128	2048	6,0	
- 4	15 10 5	16	1024	1024	64	8	128	128	128	128	64	64	2048	64	256	4096	7,33	
- 3	15 10 5	64	1024	1024	128	32	256	256	-	512	128	128	4096	64	512	4096	8,29	
- 2	14 9 5	64	2048	2048	128	32	256	1024	512	1024	256	128	4096	32	1024	2	1,2	
- 1	14 9 5	128	4096	4096	128	64	1024	2048	1024	2048	1024	256	4096	64	1024	9,4		
2.OP	14 9 5	256	4096	4096	256	64	1024	4096	2048	4096	1024	512	4096	128	2048	n ₂	10,0	
+ 1	13 8 5	128	512	512	64	X	64	1024	4096	2048	64	64	256	64	256	8	8,0	
+ 2	13 8 5	512	2048	2048	256	256	512	1024	4096	4096	512	256	1024	256	1024	16	9,77	
+ 3	12 7 5	X	4096	4096	128	-	512	1024	4096	4096	256	256	2048	128	1024	9,83		
+ 4	12 7 5	4096	4096	4096	128	4096	4096	4096	2048	4096	2048	2048	4096	256	4096	64	11,0	
+ 5	12 7 5	4096	4096	4096	128	4096	4096	4096	2048	4096	1024	512	4096	256	4096	10,75		
+ 6	10 5 5	5	4096	4096	X	2048	32	128	16	32	32	16	256	128	128	(4,4)	8,0	
+ 7	9 4 5	5	4096	4096	1024	1024	32	X	512	256	128	128	4096	256	256	(4,4)	8,4	
+ 8	8 3 5	5	X	512	1024	128	128	128	128	128	64	16	256	256	256	(4,6)	9,7	
+ 9	7 2 5	2	1024	1024	2048	256	256	8	32	16	16	32	4096	32	4096	(4,4)	11,0	
+10	7 2 5	2	128	256	256	16	1024	16	64	16	32	32	32	4096	32	6,0		
+11	1 1 0	1	32	32	X	---	---	---	---	---	---	---	X	---	---	(4,2)	10,0	
+12	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5,0	
+13	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5,0	
+14	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
+15	0 0 2	2	X	X	---	---	---	---	16	32	---	---	---	---	---	2,5	4,5	
+16	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
+17	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
+18	0 0 0	0	X	X	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
+19	0 0 1	1	X	X	---	---	---	---	16	---	---	---	---	---	---	3,0	4,0	
+20	0 0 1	1	X	X	---	---	---	---	8	---	---	---	---	---	---	3,0	3,0	
+21	0 0 3	3	X	X	---	---	---	---	---	---	---	2	---	---	---	2,33	1,0	



pern im Serum von Hund A festzustellen. Mit der Rücktransplantation der Milz findet also eine Übertragung von Antikörpern gegen ein Antigen statt, gegen das ursprünglich nur der Spenderhund B immunisiert worden war. Die untere, gestrichelte Linie in Abb. 59 steht für jene Hunde, bei welchen es zur Rücktransplantation der eigenen Milz nicht mehr kam, weil der zugehörige Hund B noch vor der 2. Operation verstarb. Daß dennoch hier ein leichter Anstieg der hämagglutinierenden Anti-SRBC-Antikörper festzustellen ist, dürfte durch eine unspezifische postoperative Reaktion zu begründen sein.

3.4.2. Titerverlauf an hämolysierenden Antikörpern

Abb. 60 (Werte aus Tab. 15) zeigt die Bildung hämolysierender Antikörper im Serum der potentiellen Spenderhunde (Hund B). Wie schon bei den hämagglutinierenden Antikörpern, zeigt auch die obere Kurve in Abb. 60 einen Anstieg des anti-SRBC-Antikörpertiters im Serum von Hund B nach dreimaliger Immunisierung des Tieres gegen SRBC. Auch hier muß der Abfall des Antikörpertiters nach der 1. Operation wohl durch Blutverlust und Volumenersatz während des operativen Eingriffs erklärt werden.

Wie aus dem unteren Teil der Abb. 60 ersichtlich ist, tritt völlig analog zur Situation bei den hämagglutinierenden Antikörpern auch bei den hämolysierenden Antikörpern eine Übernahme der Immunität gegen HRBC bei Hund B durch die Milztransplantation nach der 1. Operation auf.

Die Abbildungen 61 und 62 (Werte in Tab. 16) vermitteln den Titerverlauf an hämolysierenden Antikörpern im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A). Zunächst ist aus Abb. 61 der anti-HRBC-Antikörpertiter von Hund A nach dreimaliger Immunisierung des Tieres gegen HRBC zu entnehmen. Spätestens nach der 3. Immunisierung steigt der Antikörperserumspiegel stark an, die beiden Titerabfälle nach den Operationen gehen auf Blutverlust und Hämodilution zurück.

Analog zur Übernahme eines Titers an hämagglutinierenden anti-SRBC-Antikörpern durch den Hund A nach der Milzrücktransplantation, steigt auch der hämolysierende Antikörpertiter gegen SRBC mit Rücktransplantation der an Hund B entliehenen Milz in Hund A rapide an. Die gestrichelte Kurve in Abb. 62 gilt wieder für jene Hunde A, welche ihre eigene Milz aus oben schon erwähntem Grund nicht zurückbekamen.

Wie dieses Kapitel verdeutlicht, konnte der Beweis dafür erbracht werden, daß die transplantierte, wie auch die rücktransplantierte Milz immunologisch voll aktiv ist. Der gegen HRBC immunisierte Hund A konnte durch die allogene Milztransplantation auf den gegen SRBC immunisierten Hund B sowohl hämolysierende wie auch hämagglutinierende Antikörper übertragen, die gegen HRBC gerichtet sind. In analoger Weise wurde bei Hund A nach autologer Milzrücktransplantation ein Antikörpertiter gegen SRBC (hämagglutinierend wie hämolysierend) im Serum gefunden, obgleich Hund A nur gegen HRBC immunisiert worden war. In Abb. 63 ist diese Übertragung von Antikörpern noch einmal schematisch dargestellt.

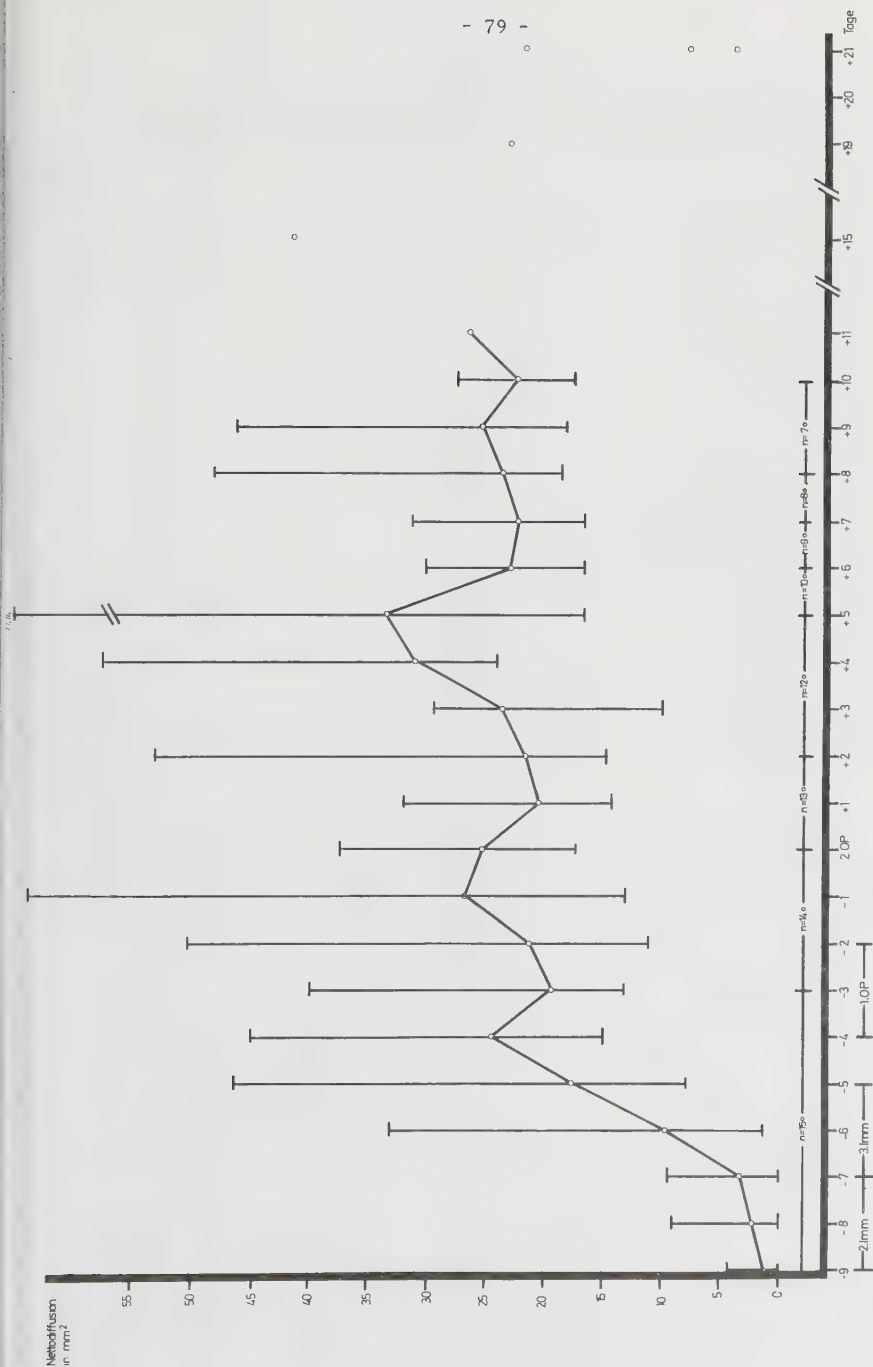


Abb. 61 Bildung hämolysierender Antikörper im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A) gegen HRBC nach 3-maliger Immunisierung (Imm.) mit HRBC.
 Abszisse: lineare Zeitachse vor und nach der 2. Operation.
 Ordinate: lineare Lysis-Flächenachse (Mittelwerte und Variationsbreiten).

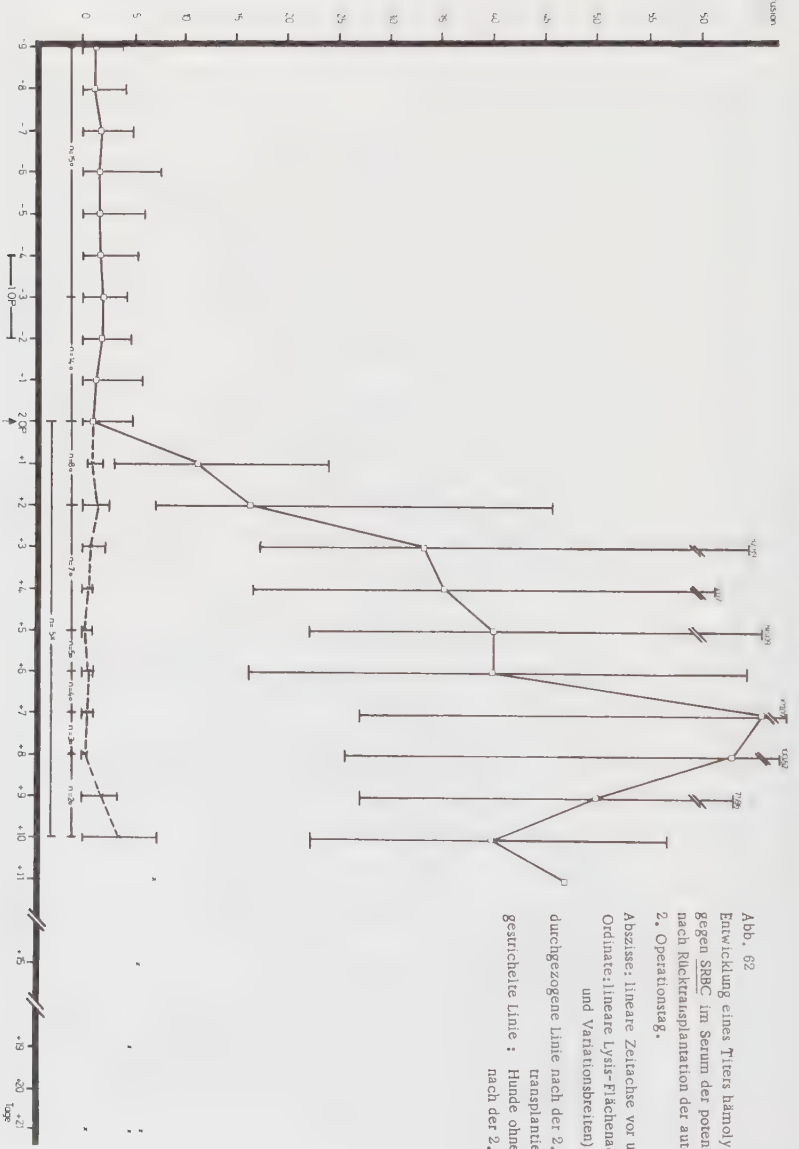


Abb. 62
Entwicklung eines Tierverserums mit Antikörper
gegen SRBC im Serum der potentiellen Empfängertiere,
nach Rücktransplantation der autologen Milz am
2. Operationstag.
Abszisse: lineare Zeitachse vor und nach der 2. OP.
Ordinate: lineare Lysis-Fächenachse (Mittelwerte
und Variationsbreiten).
durchgezogene Linie nach der 2. OP; Hunde mit rück-
transplantiert autologer Milz,
gestrichelte Linie: Hunde ohne Milz in der Phase
nach der 2. Operation.

Tab. 16

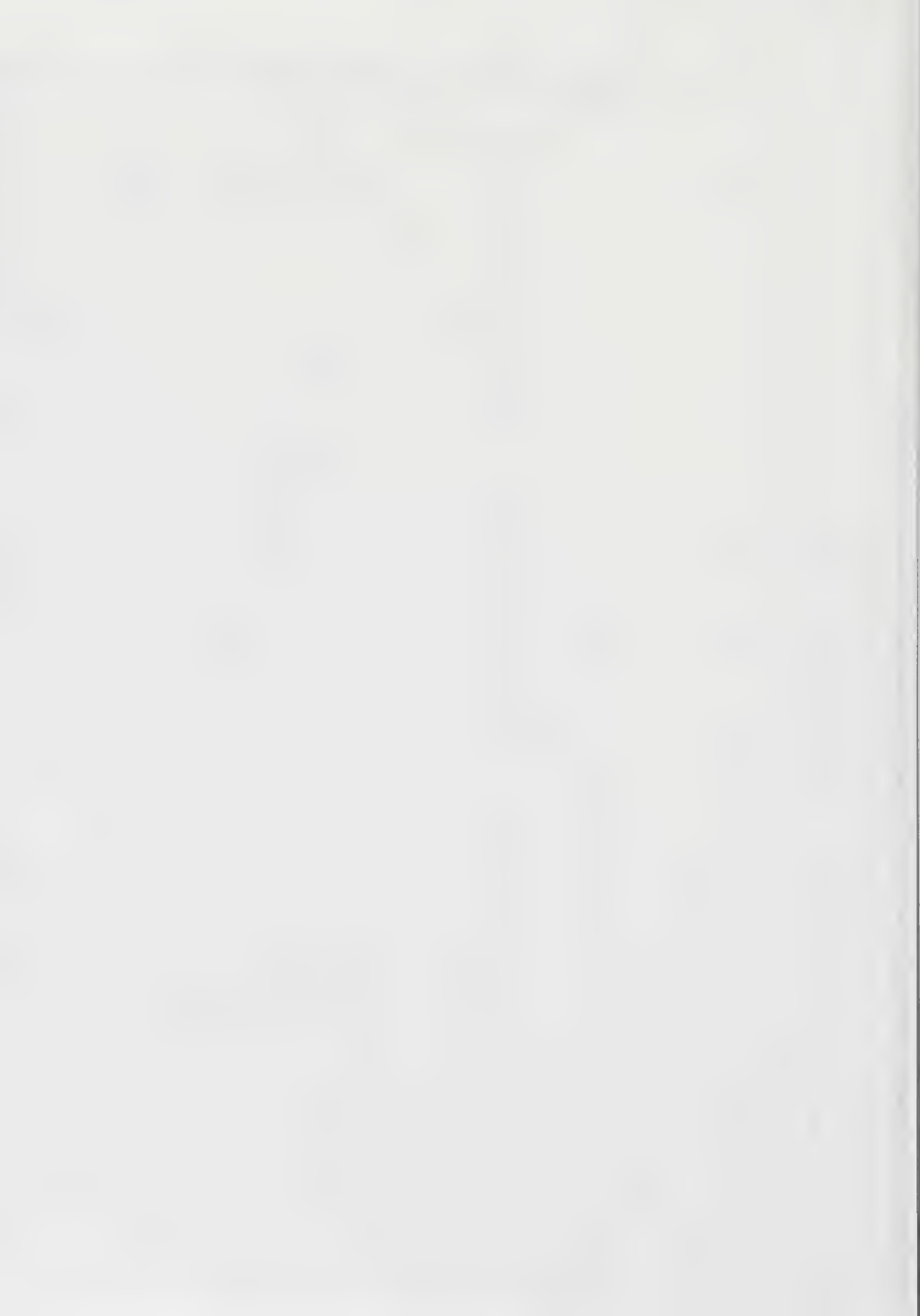
Bildung hämolysierender Antikörper im Serum der potentiellen Empfängerhunde (Hund A)

In jedem einzelnen Kästchen gibt der obere Wert den Titer an hämolysierenden Antikörpern gegen HRBC, der untere Wert den gegen SRBC wieder. X bedeutet, daß der jeweilige Hund an diesem Tag verstarb, während bei dem Zeichen - von diesem Tag kein Meßwert vorliegt, obgleich das Versuchstier noch am Leben war.

In der 2. vertikalen Spalte stehen die Fallzahlen für die Antikörper-Mittelwerte in der letzten vertikalen Spalte. n ist die Fallzahl für Hunde, die gegen HRBC immunisiert wurden und einen entsprechenden Antikörpertiter entwickelten, n₁ gibt als Untergruppe von n diejenigen immunisierten Hunde an, die zur Rücktransplantation ihrer Milz kamen. Nur diese Hunde konnten einen Antikörpertiter gegen SRBC entwickeln, wozu n₂ jene Hunde zählt, bei denen es zur Rücktransplantation der autologen Milz nicht kam, da der zugehörige Spenderhund B vorher verstarb. Diese Tiere (n₂=5) sind über ihrer Nummer mit * bezeichnet. (n = n₁ + n₂).

Die Zahlen geben die "Nettodiffusionsflächen" in mm² an, deren Bedeutung im Text erklärt ist.

Tag	Fall- zahl	Nummern der immunisierten Empfängerhunde															Mittel- wert
		n	263	254	236	195	105	178	200	156	158	168	221	184	261	97	414
- 9	15 10 5	15	3,14 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	3,35 2,04	1,14 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	4,32 4,08	3,15 0,0	2,98 2,64	0,0 0,0	1,14 0,0	0,0 3,78	0,0 0,0	0,0 0,0
- 8	15 10 5	15	9,28 0,0	2,09 0,0	1,68 0,0	4,30 2,43	1,68 0,15	1,18 4,71	0,0 0,0	5,35 3,98	4,27 0,0	3,10 1,52	0,0 0,0	2,35 0,0	0,0 4,21	0,15 0,0	0,0 0,0
- 7	15 10 5	15	3,45 3,50	0,48 0,0	5,70 0,0	9,73 0,0	0,09 4,73	2,45 2,71	1,10 0,0	7,41 3,84	8,22 0,91	3,84 0,0	0,0 3,01	3,46 1,18	0,0 5,06	0,0 0,0	3,27 1,84
- 6	15 10 5	15	33,14 5,09	1,25 0,0	6,57 0,55	7,75 0,0	10,49 0,0	3,80 1,74	2,35 0,0	7,43 0,0	18,00 7,76	9,88 4,35	4,12 0,0	2,35 2,56	15,30 0,60	5,58 0,18	7,81 0,0
- 5	15 10 5	15	46,17 3,48	13,60 0,0	8,03 1,83	14,00 0,0	10,00 0,0	14,13 0,0	8,31 0,0	7,55 6,09	28,77 5,92	21,60 2,40	14,11 0,0	14,71 2,18	17,21 0,0	13,60 2,70	18,44 0,0
- 4	15 10 5	15	45,04 1,60	19,00 4,64	18,73 0,0	18,85 0,0	20,97 3,23	23,80 1,11	20,45 0,0	19,73 0,0	30,00 0,0	15,40 5,55	17,25 0,73	20,00 0,0	19,35 4,63	16,81 0,0	38,90 3,34
- 3	15 10 5	15	30,32 0,0	17,31 0,0	15,54 0,0	13,32 0,0	15,23 0,0	19,54 0,0	15,78 0,0	17,61 2,02	21,42 0,0	14,25 3,88	16,80 0,0	21,05 3,54	15,22 0,0	17,00 0,61	40,01 4,24
- 2	14 9 5	14	50,35 3,02	14,86 4,64	26,11 2,08	17,08 2,89	15,71 3,96	21,24 0,0	20,73 0,0	21,24 0,0	36,28 0,10	14,22 3,77	11,24 0,0	11,64 0,0	20,90 0,44	15,77 3,19	21,24 1,72
- 1	14 9 5	14	63,52 4,34	13,21 1,78	30,42 0,0	15,47 1,07	24,89 0,0	25,14 0,0	24,78 0,0	23,70 0,0	36,20 0,0	28,12 5,82	24,20 0,0	19,72 0,0	26,12 0,0	18,29 2,72	26,84 1,12
2. OP	14 9 5	14	35,19 4,78	19,71 0,0	28,42 0,0	17,45 0,0	20,12 0,0	26,14 0,0	25,64 0,0	24,89 0,0	37,42 0,0	29,57 0,0	23,02 4,02	19,71 0,0	22,15 0,0	22,55 2,55	25,14 0,81
+ 1	13 8 5	13	25,32 8,42	14,41 24,16	23,28 3,53	18,20 9,73	X	15,32 0,82	17,28 5,40	19,45 0,70	38,11 2,02	28,70 3,97	19,71 1,04	14,90 9,95	19,85 23,66	18,72 5,62	n ₂ (1,70)
+ 2	13 8 5	13	53,11 13,94	11,85 28,89	24,69 7,72	17,56 16,54	17,56 0,0	14,90 0,0	17,55 7,22	22,77 0,61	25,42 0,0	22,99 4,14	15,32 2,52	19,29 30,49	18,02 45,82	15,84 12,38	21,72 20,38
+ 3	12 7 5	12	X 31,61	10,01 19,70	22,40 22,79	22,40 28,79	21,11 0,48	21,09 0,48	24,52 17,46	28,43 0,0	28,12 2,24	28,12 2,24	28,40 1,07	19,72 27,04	26,12 82,39	18,29 31,95	26,84 10,76
+ 4	7 5	7	24,09 44,10	32,50 18,10	28,52 27,93	28,52 0,0	24,55 0,56	57,33 21,06	31,81 0,0	32,37 0,48	30,21 1,10	27,42 0,56	27,42 0,56	29,53 16,75	25,16 77,02	28,50 42,20	31,00 35,31
+ 5	12 7 5	12	16,65 22,45	19,64 22,68	31,53 16,72	31,53 23,57	29,35 0,0	58,07 0,0	33,24 40,21	20,95 26,24	32,58 16,81	32,58 27,00	30,00 25,71	77,74 30,04	20,77 86,09	29,35 53,71	33,32 40,10
+ 6	10 5 5	10	24,75 28,68	16,72 16,26	X	X	20,27 0,76	30,21 63,28	16,81 0,29	16,81 0,45	16,81 0,92	16,81 0,92	25,71 0,0	19,35 25,78	X	23,53 64,66	33,06 (0,48)
+ 7	9 4 5	9	20,27 64,66	29,59 107,07	X	X	16,92 0,0	X	21,30 0,33	16,81 0,45	22,42 0,92	21,97 0,38	19,86 64,66	31,40 27,25	X	19,86 64,66	22,28 (0,42)
+ 8	8 3 5	8	X X	X X	X X	X X	18,75 0,0	22,12 0,0	18,52 0,21	21,37 0,15	21,37 0,15	20,05 0,15	18,73 63,00	48,17 25,78	18,73 63,00	23,65 (0,10)	23,65 (0,10)
+ 9	7 2 5	7	26,74 71,96	X X	X X	X X	18,32 0,0	24,15 3,27	19,37 2,17	20,06 0,82	20,06 0,39	22,11 0,39	25,27 (1,33)	46,15 27,22	X	25,27 (1,33)	49,59
+10	7 2 5	7	27,43 57,06	X X	X X	X X	17,56 0,0	22,48 5,42	19,98 0,0	20,18 7,24	20,18 4,19	23,81 24,57	22,29 (3,37)	24,57 22,46	X	22,29 (3,37)	39,76
+11	1 1 0	1	26,30 47,00	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	26,30 47,00
+12	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+13	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+14	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+15	1 0 1	1	41,10 5,43	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	41,10 (5,43)
+16	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+17	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+18	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+19	1 0 1	1	22,90 4,66	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	22,90 (4,66)
+20	0 0 0	0	X X	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
+21	3 0 3	3	7,43 4,88	X X	X X	X X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10,85 (3,70)



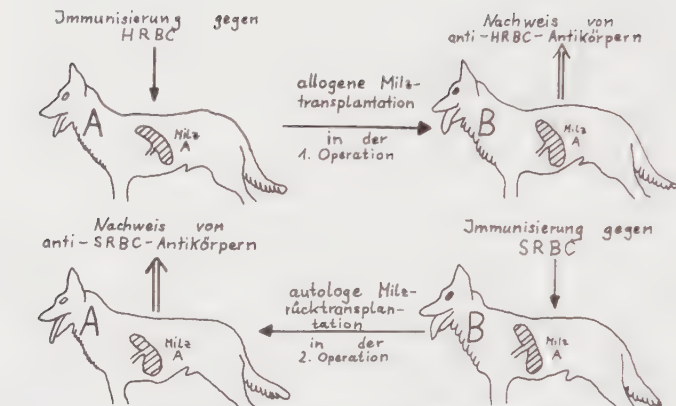


Abb. 63 Antikörperübertragung durch Milztransplantation

3.4.3. Ergebnisse des Plaque-Testes

Trotz mehrfach modifizierter Technik und unterschiedlichster Versuchsmaterialien konnten antikörperbildende Zellen unter den Lymphozyten des Hundes nicht direkt nachgewiesen werden. Diese an diversen anderen Spezies erprobten und hier angewendeten Methoden sind offensichtlich nicht ohne weiteres auf das System Hund übertragbar.

3.4.4. Ergebnisse der DLA-Typisierung

In 6 von 9 Empfänger-Spender-Kombinationen war eine Typisierung beider Hunde möglich (Tab. 17). In einer Kombination konnte nach Rücktransplantation der Milz ein vor der Transplantation nicht vorhandenes DLA-Antigen und zwar DLA-B₄ nachgewiesen werden. DLA-B₄ war ein Antigen des Spenderhundes 253, der das Muster DLA-A₂,A₉/B₄,B₆ hatte, während der Empfängerhund 254 DLA-A₃,A₉/B₁₂,B₁₃ und nach der Rücktransplantation der Milz DLA-A₃,A₉/B₄,B₁₂,B₁₃ aufwies. In allen anderen Fällen konnten keine DLA-Antigene des Spenderhundes beim Empfänger nachgewiesen werden.

Tab. 17 Ergebnisse der Histokompatibilitätstestung			
potentieller Empfängerhund DLA		potentieller Spenderhund DLA	
236	A9	228	A1, A9/B13
254	A3, A9/B12, B13	253	A2, A9/B4, B6
261	A1, A3/B12, B13	265	--/--
263	A2, A3/B4, B12	266	A2, A9/B6
284	A1, A3/B12, B13	285	A2, A8/B13
414	A3/B9	409	A1, A2/B4, B13
424	A2, A8/B4	423	A3/B12

4. DISKUSSION

4.1. Erläuterung der theoretischen Grundlagen dieses Experimentes

4.1.1. Immunologische Situation in Hund A nach der 2. Operation

Durch die Rücktransplantation der autologen Milz und durch die Transplantation der allogenen Niere wird in Hund A die in Abb. 64 und Abb. 65 dargestellte immunologische Situation geschaffen:

Durch die Nierentransplantation werden DLA-(dog lymphocyte antigen)-Antigene von Hund B auf Hund A introduziert.

Gleichzeitig existieren in Hund A durch die Milzrücktransplantation immune und nicht-immune T- und B-Zellen nebeneinander: die immunen T/B-Zellen ('primed cells') stammen aus der rücktransplantierten Milz, stehen dem Empfängerorganismus (Hund A) zur Verfügung und sind spezifisch gegen die DLA-Antigene von Hund B (transplantierte Niere) gerichtet. Die Lymphozyten in der zurücktransplantierten Milz wurden vorher 2-4 Tage im Organismus von Hund B gegen dessen DLA-Antigene sensibilisiert. Die nicht-immunen T/B-Zellen ('virgin cells') dagegen stammen aus dem restlichen lymphatischen Gewebe (außer der Milz) von Hund A. Dieser Versuchsansatz erlaubt also eine in-vivo-Interaktion von nicht-immunen T/B-Zellen mit immunen T/B-Zellen bei simultaner Anwesenheit von allogenen Transplantationsantigenen. Das noch nicht sensibilisierte lymphatische System in Hund A (ohne Milz; also Lymphknoten, Thymus) wird mit immunen lymphatischen T/B-Zellen aus der rücktransplantierten Milz konfrontiert. Diese immunen T/B-Zellen haben im Laufe ihrer 2-4tägigen Verweildauer im Organismus von Hund B (Spender) im Rahmen der proliferativen Vorgänge bei einer Immunantwort gegen die DLA-Antigene des Spendertieres Antigen-bindende Rezeptoren ausgebildet.

In Hund A sollte also eine spezifische 'unresponsiveness' gegen das allogene Nierentransplantat erzeugt werden, was im Vergleich zu Kontrollgruppen zu einer verlängerten Überlebenszeit der Fremdniere führen müßte. Zur Erlangung einer 'specific unresponsiveness' werden derzeit u.a. folgenden Immunmechanismen diskutiert:

1. Induktion einer Suppressor-T-Zellaktivität,
2. Induktion einer auto-antiidiotypischen Immunität.

Beide Mechanismen sollen im folgenden kurz erörtert werden.

4.1.2. Zur Rolle der Suppressor-Zellen bei der spezifischen Immunsuppression

Ursprünglich wurde der Begriff der 'Suppressor-Zellen' als Arbeitshypothese geschaffen, um die "negative" Seite der T-Zellregulation beschreiben zu können (57). Man versteht darunter eine Subpopulation von T-Lymphozyten, welche die Antikörpersynthese durch B-Zellen und zelluläre Immunreaktionen durch Effektor-T-Zellen verhindert (49,76,142). Demgegenüber wird die "positive" Seite der T-Zellregulation von den 'Helfer-Zellen' gebildet, die genau entgegengesetzt im Sinne einer Förderung der Immunantwort wirken. Physiologischerweise besteht ein Gleichgewicht zwischen Helfer- und Suppressor-Zellen im Orga-

nismus. Dadurch, daß die Suppressor-T-Zelle eine spezifische Immunreaktion gegen ein bestimmtes Antigen zu unterdrücken vermag, entsteht eine Toleranz diesem Antigen gegenüber (76). Es wird angenommen, daß Suppressor-T-Zellen nicht nur eine spezifische, sondern auch eine unspezifische Immunsuppression erzeugen (8,57). Welches Signal Suppressor-Zellen aktiviert, ist bislang noch nicht genau bekannt (142). Die Entstehung von Suppressor-T-Zellen erfordert jedenfalls komplexe Interaktionen zwischen verschiedenen Zellpopulationen. Nach Gershon et al. (54,55,56,57) finden diese Interaktionen zwischen nicht-immunen T-Zellen und immunen T- oder B-Zellen statt (Abb. 66).

Auch der genaue Wirkungsmechanismus dieser Suppressor-T-Zellen ist noch unbekannt (7,142) und läßt sich nach Gershon (57) lediglich damit umschreiben, daß der Mechanismus der Suppressor-Zellen dem der Helfer-Zellen genau entgegengesetzt funktionieren muß.

Auf jeden Fall legt die Theorie der Suppressor-T-Zellen ein biokybernetisches Modell zur Erklärung der Regulation des Immunsystems nahe. Ein 'feed-back'-Signal kann die Ausdifferenzierung von 'virgin'-cells zu T-Helfer-Zellen hemmen, wobei das Antigen den Trigger-Mechanismus zur Auslösung der Suppression darstellt. Diese 'feed-back'-Signale von immunen T/B-Zellen wirken auf nicht-immune T/B-Zellen und induzieren möglicherweise Suppressor-T-Lymphozyten, indem über diese Rückkopplungssignale eine Ausdifferenzierung von 'precursor'-Zellen zu Suppressor-Zellen und nicht zu Helfer-Zellen erfolgt. Man nimmt an, daß sog. 'antigen-presenting-cells' diese Signalfunktion übernehmen. Ihre Funktion soll von der ihnen angebotenen Antigenmenge abhängig sein.

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten so zeigen, daß Milzzellen toleranter Tiere nach Übertragung auf Kontrolltiere oder in ein in-vitro-System, die Immunantwort der normalen Zellen

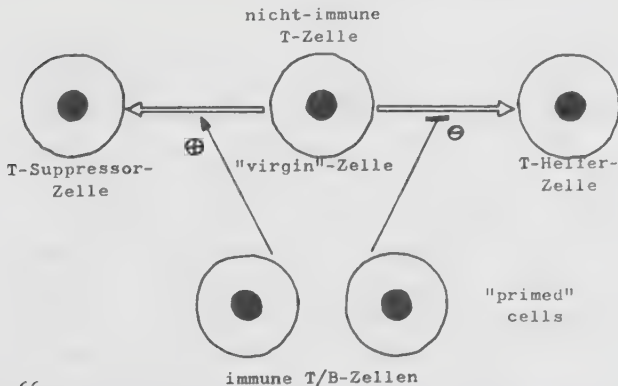


Abb. 66

Interaktion von nicht-immunen T-Lymphozyten und immunen T/B-Lymphozyten bei der Induktion von T-Suppressor-Zellen (Gershon et al., 1974). $\oplus$ bedeutet Induktion, $\ominus$ bedeutet Hemmung.

gegen das tolerierte Antigen hemmen konnten (7,25,26,49,57, 141,142,148). Diese Hemmung der Immunantwort gegen das Antigen wurde auf Suppressor-Zellen zurückgeführt. Sampson et al. (125, 126) berichten von Experimenten, bei welchen möglicherweise Suppressor-Zellen aus der Milz den Beginn einer Transplantatabstoßung allogener Nieren verzögern und folgern daraus, daß diese Suppressor-Zellen möglicherweise eine wichtige Rolle bei der Entwicklung einer spezifischen Organ-Transplantat-Toleranz zukommt (126).

In Analogie zu diesen experimentellen Vorarbeiten untersuchten wir, ob auch am nicht-ingezüchteten Großtier möglicherweise eine Verlängerung der Überlebenszeit eines allogenen Nierentransplantates erreicht werden könnte, welche sich auf eine spezifische Immunsuppression durch Suppressor-Zellen zurückführen ließe.

4.1.3. Zur Rolle der anti-idiotypischen Antikörper bei der spezifischen Immunsuppression

Auch die Induktion von anti-idiotypischen Antikörpern unterliegt möglicherweise spezifischen immunregulatorischen Mechanismen.

Der Ausdruck 'Idiotyp' beschreibt die ganze variable Region eines Antikörpers, also die individuelle, spezifische Sequenz der Fab-Ketten. Diese bestimmt, gegen welches Antigen der betreffende Antikörper gerichtet ist (49,79). Durch diese variablen Sequenzanteile kann nun jeder Antikörper seinerseits zum Antigen werden, so daß Antikörper gegen ihn selbst entstehen (14,148). Denjenigen Antikörper, welcher nun diesen immunogenen, variablen Sequenzanteil erkennt, bezeichnet man als anti-idiotypischen Antikörper (79), wobei die Affinität zwischen Idiotyp und Antiidiotyp voll und ganz auf die variable Region beschränkt bleibt. Idiotyp und komplementärer Antiidiotyp sind also im selben Tier hergestellt worden und sind auch im selben Tier gegenwärtig (= Auto-Antiidiotypen, im Gegensatz zu Allo-Antiidiotypen, welche ein allogener Organismus erzeugt). Sie tauchen im Verlauf einer Immunantwort in zeitlicher Reihenfolge nacheinander auf. Antiidiotypische Antikörper können die Produktion ihres komplementären Idiotypen unterdrücken und damit auch dessen Reaktivität gegen ein definiertes Antigen (79).

In gleicher Weise können antiidiotypische Antikörper auch gegen den antigenbindenden Rezeptor einer immunkompetenten Zelle, der strukturell dem variablen Teil der Antikörper ähnlich ist, gebildet werden. Dies würde bedeuten, daß die anti-idiotypischen Moleküle tiefgreifende regulatorische Einflüsse auf Zellinteraktionen ausüben und somit die Ausbildung von Suppressor- bzw. Helfer-T-Zellen stimulieren oder unterdrücken können (49). Die Folge ist dann die komplette Überdeckung der Reaktivität gegen ein bestimmtes Antigen, wie z.B. gegen ein allogenes Transplantationsantigen (162), wenn jeder T-Lymphozyt, welcher den Rezeptor für das Antigen trägt, ausgelöscht wird. Diese Induktion einer auto-antiidiotypischen Immunität führt dann zu einem langdauerndem Zustand von spezifischer 'unresponsiveness' gegenüber einem bestimmten allogenen Transplantat, welcher vielleicht lebenslänglich für das betreffende

Individuum anhalten könnte (162).

Mittlerweile sind verschiedene Versuchsanordnungen an in-gezüchteten Nagern getroffen worden. In diesen Tierexperimen-ten konnte die Wirkung einer anti-idiotypischen Immunsuppres-sion dadurch gezeigt werden, daß es zu signifikant verlängerten Überlebenszeiten verschiedener Organe und in einigen Fäl-len auch zu permanenter Fremdorganannahme durch das Empfänger-tier kam (3,8,13,14,17,18,19,20,21,24,47,75,79,104,141,147,148,149,150,157,162).

In diesen Experimenten wurde versucht, dieses im wesentli-chen von Binz und Wigzell eingeführte Konzept der auto-anti-idiotypischen Immunität auf unser Versuchsmodell am nicht-in-gezüchteten Großtier zu übertragen. Wie Abb. 67 zeigt, bildet die allogene von Hund A nach Hund B transplantierte Milz Anti-körper gegen die Histokompatibilitätsantigene von Hund B (da-bei ist es für die schematische Darstellung in Abb. 67 unwe-sentlich, ob diese Antikörper nun frei oder zellständig dar-gestellt sind). Natürlich produziert gleichzeitig das um die Milz reduzierte immunologische System von Hund B reaktive Faktoren gegen das Fremdgewebe: Milz von Hund A. Nach der au-tologen Rücktransplantation der Milz auf Hund A, verbunden mit der gleichzeitigen allogenen Nierentransplantation von Hund B nach Hund A, läuft die Immunantwort gegen die introduzierten DLA-Antigene von Hund B (Spenderniere) unter dem Einfluß der immunen T/B-Lymphozyten aus der rücktransplantierten Milz an (blauer Wirkungspfeil in Abb. 68). Das restliche, nicht gegen Histokompatibilitätsantigene von Hund B sensibilisierte Im-munsystem in Hund A ('Nicht-Milz-System'), könnte nun Anti-körper gegen die Rezeptoren der gegen die B-Niere gerichteten Zellen oder Antikörper produzieren: anti-idiotypische Antikör-per (roter Wirkungspfeil in Abb. 68). Das Ergebnis wäre dann das spezifische Aussetzen der Reaktivität gegenüber den Trans-plantationsantigenen, also eine verzögerte oder vielleicht auch ganz ausgesetzte Abstoßungsreaktion der allogenen Niere.

4.2. Operativ-technischer Teil des Experimentes

4.2.1. Vorarbeiten auf dem Gebiet der experimentellen und klinischen Milztransplantation

Eine Splenektomie nach Traumatisierung der Milz (Milzruptur) ist in der allgemeinen Chirurgie Standardmethode (16) ohne ernste postoperative Komplikationen (21,123). Beim Erwachse-nen tritt nach Splenektomie keine signifikante Beeinträchti-gung der zellulären immunologischen Parameter (113) oder der allgemeinen körperlichen Gesundheit (21) auf. Lediglich bei Kindern kann die Splenektomie einen erheblichen Eingriff mit bisweilen letalen Komplikationen darstellen. Verschiedene Quel-len berichten bei splenektomierten Kindern nach Nierentrans-plantationen von unberechenbaren, fulminanten Sepsiden mit ei-ner Letalitätsquote bis zu 50% (23,31,42,86,87,113). Eine Ar-beitsgruppe aus Denver beobachtete letal verlaufende Infektio-nen mit Diplococcus pneumoniae und Haemophilus influenza Typ B in 4 Fällen noch 12 bis 20 Monate nach der Transplantation ei-ner Niere mit Milzexstirpation und Immunsuppression (135).



Abb. 67

Immunologische Aktivität der Milz von Hund A im Organismus von Hund B (Zustand nach der 1. Operation)

Die allogene, von Hund A nach Hund B transplantierte Milz (M_A) bildet Antikörper ($\alpha B-AK$) gegen Gewebsantigene von Hund B. Fc = konstanter Anteil des Antikörpers, Fab = Antigen bindender Anteil des Antikörpers.

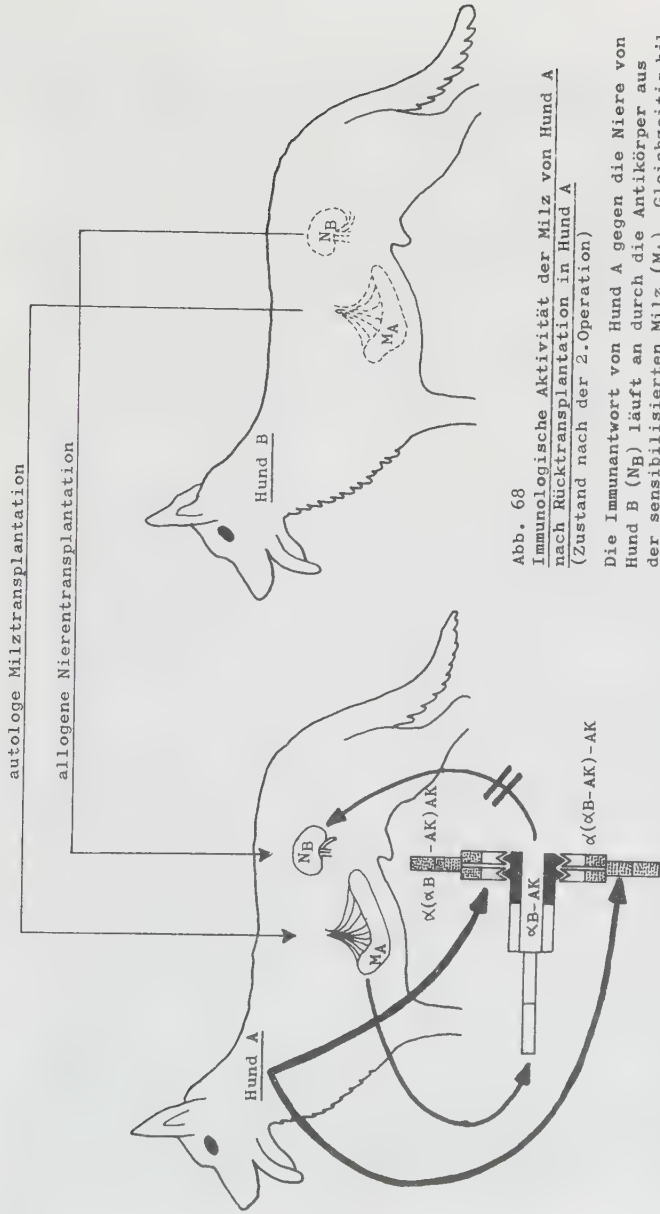


Abb. 68

Immunologische Aktivität der Milz von Hund A nach Rücktransplantation in Hund A (Zustand nach der 2. Operation)

Die Immunantwort von Hund A gegen die Niere von Hund B (NB) läuft an durch die Antikörper aus der sensibilisierten Milz (MA). Gleichzeitig bildet Hund A Antikörper gegen den variablen Anteil von $\alpha B-AK$, nämlich $\alpha(\alpha B-AK)-AK$. $\alpha(\alpha B-AK)-AK$ ist der anti-idiotypische Antikörper zu $\alpha B-AK$.

Da die Milz lange Zeit als ein Organ galt, das abgesehen von der Blutmauserung keine vitalen Funktionen besitzt, war ihre Transplantation nur von geringem experimentellen und klinischen Interesse (21), Marchioro et al. versuchten, die Milztransplantation beim Menschen als eine Behandlungsmethode gegen Immunoglobulin-Mangelzustände einzusetzen. Sie blieben aber mit diesem Konzept weitgehend erfolglos (berichtet bei 89).

Die erste experimentelle allogene Milztransplantation wurde 1908 von Alexis Carell orthotrop am Hund durchgeführt (29, 30). Danach wurde dieser Thematik über einen Zeitraum von fast fünfzig Jahren von keiner Arbeitsgruppe Aufmerksamkeit zuteil. Erst im Jahr 1953 wurden von Eyquem und Oudot wieder Milzen transplantiert, und zwar bei Ziegen heterotrop an V.jugularis und A.carotis ext. (sog. 'Halsmilz') (43). Im gleichen Jahr transplantierten Simonsen et al. Hundemilzen, indem sie kleine Plastikröhrchen für die Gefäßanastomosen verwendeten. Sie beobachteten, daß sowohl Empfänger als auch gespendetes Organ gegeneinander aktiv wurden und prägen hierfür den Begriff der 'Parabiose' (berichtet bei 16,161). 1961 transplantierten Pierce, McDonald und Varco Hundemilzen heterotrop an die Halsgefäße, während Fisher et al. die Hundemilz bereits orthotrop verpflanzten, indem sie A.lienalis und Aorta, bzw. V.lienalis und V.cava caud. mittels einer Patch-Technik anastomosierten (45). Seither wurde die Milz immer wieder von verschiedenen Experimentatoren unter diversen Fragestellungen und mit mehrfach modifizierter Technik transplantiert: Lillehei et al. (am Hund, mit Bestrahlung), Montague und Wheeler (Hund, 1962), Dammin et al. (Hund, 1962), Kountz und Cohn (Hund, heterotrop an die iliaca-Gefäße, 1962), Marchioro et al. (Hund, 1963 und Mensch, 1965), Mahajan et al. (Hund, heterotrop an die iliaca-Gefäße, 1965), Groth, Hathaway und Starzl (Hund, Heilung von Haemophilie, 1974) und Bitter-Suermann (Ratte, 1974) (16,33,72,94,96,98).

Vom immunologischen Standpunkt reizt die Fragestellung nach einer Transplantation von immunologisch kompetenten Geweben, wie z.B. Knochenmark und Milz (16). Weil sich diese Gewebe im Empfängerorganismus nicht immunologisch inert verhalten und nur abgestoßen werden, sondern umgekehrt auch gegen den Transplantatempfänger reaktiv werden können ('graft-versus-host-reaction', 96,161), wird durch die Verpflanzung genannter Gewebe ein immunologisch komplexes Transplantationsmodell geschaffen (109). Die Größe und die vaskuläre Versorgung der Milz bieten dieses Organ für eine experimentelle Verpflanzung am Hund an, weil die als ganzes Organ transplantierte Milz ein ausgezeichnetes System für die immunologische Forschung mit retikuloendotheliale Gewebe darstellt (161).

Was die Aufgaben- und Problemstellung dieser Arbeit betrifft, wurden bisher fast alle Experimente dazu an ingezüchteten Nagern durchgeführt (3,7,13,14,16,21,25,38,44,47,54,55, 56,57,75,90,93,104,107,154,159,162). In deren streng definierten Immunsystemen wurden zur Untersuchung der Induktion von Suppressor-T-Lymphozyten und der Wirksamkeit von anti-idiotypischen Antikörpern klassisch-immunologische in-vitro-Assays benutzt. Das Experiment am ingezüchteten Versuchstier hat den

Vorteil einer guten Reproduzierbarkeit. Es sollte nun ein in-vivo-Versuchsmodell an einer nicht ingezüchteten Großtierspezies (Hund) geschaffen werden, um Ergebnisse aus in-vitro-Experimenten überprüfen zu können, da die in-vivo-Situation von größerer klinischer Relevanz ist.

Abgesehen davon, daß für einen Transferversuch von Nager-Ergebnissen auf ein nicht ingezüchtetes Großtier Schwierigkeiten vorausgesagt wurden (21), stellt die experimentelle Transplantation der Milz ein sehr komplikationsreiches operatives Experiment dar. Als Hauptkomplikationen werden von verschiedenen Autoren Milzvenenthrombosen, Darminvaginationen, letale Hämorrhagien als Folge des Milzvenenverschlusses, Abknicken der Milzgefäße durch Eigenrotation des Organs im Abdomen und akute, nekrotisierende Pankreatitiden genannt. Diese Komplikationen, die auch bei unseren Versuchen hohe Ausfälle verursachten, limitieren die Erfolgsquote bei der caninen Milztransplantation auf rund 50%, wobei Thrombosen von V. und A. lienales mit etwa 15% die Hauptkomplikation darstellen (30,96, 114,139).

4.2.2. Senkung der Komplikationsrate bei der Hundemilz-Transplantation

Im folgenden soll nun die bei den hier beschriebenen Experimenten zur Anwendung gekommene Technik von Operation und Nachversorgung der Tiere diskutiert werden. Immerhin gelang es, die Komplikationsrate selbst bei zweimaliger Transplantation einer Hundemilz von anfänglich über 70% im Laufe der Experimente auf weniger als 25% zu verkleinern.

Zur Praemedikation vor den Operationen erwies sich eine Parasympatikolyse als günstig, da einmal die Speichelsekretion vermindert, ein Laryngospasmus bei der Intubation verhindert und außerdem durch eine Blockade des Herzvagus die Gefahr von Herzrhythmusstörungen vermindert wurde, welche gerade bei stark vagusreizenden Bauchoperationen unter Halothannarkose an Hunden häufig zu beobachten sind (160). Zusätzlich lähmt Atropin die glatte Muskulatur des Magen-Darm-Kanales, was sich als günstig zur Vermeidung von Darminvaginationen erweist.

In der Anfangsphase dieser Experimente gab es eine Reihe von Narkosekomplikationen, die zumindest zum Teil auf die Barbiturat-Mononarkose zurückgeführt werden müssen. Von der Komplikation der Atemlähmung bei Pentobarbital-Nachinjektionen an Versuchstieren wird auch in der Literatur berichtet (16, 21). Eine Dämpfung der Magen-Darm-Motilität durch kumulativ hohe und lange anhaltende Barbiturat-Blutkonzentrationen war möglicherweise auch für die 3 Fälle von Darminvaginationen bei den ersten Versuchen zumindest mitverantwortlich. Da sich das in der angloamerikanischen Literatur oft zitierte Charakteristikum von lange dauernden reinen Barbituratnarkosen "deadly easy, easily dead" bei unseren Versuchen so krass bestätigte, wurde diese Narkoseform in weiteren Verlauf der Experimente nur noch für die 2. Operation an Hund B angewendet, da dieser nach Beendigung des Eingriffes ohnehin nicht mehr aufwachen sollte. Einige Narkosen wurden auch mit dem Ultrakurz-narkotikum Methohexital-Natrium eingeleitet. Die postoperative Aufwachphase war mit 5-10 Minuten sehr kurz. Der Nachteil dieser

an sich brauchbaren Narkoseeinleitung aber liegt in der "ultrakurzen" Wirkungsdauer. Innerhalb kürzester Zeit mußte der Hund nach Applikation des Narkotikums auf den Rücken gedreht, an den Extremitäten befestigt und intubiert werden. Die Ergebnisse unserer Versuche bestätigen durch die Beseitigung letaler Narkosekomplikationen und durch die drastische Verkürzung der postoperativen Aufwachphase die Überlegenheit einer Kombination von Inhalationsnarkose mit Einleitung durch Neuroplegika und Analgetika gegenüber einer reinen Barbituratnarkose für langdauernde Operationen am Hund.

Vom Zustand der Milz zu Beginn der 2. Operation an Hund B wurde es abhängig gemacht, ob der betreffende Versuch fortgesetzt und die Milz auf Hund A zurücktransplantiert oder bei schlechter Perfusion der Milz das Experiment abgebrochen werden sollte. Ein großes Problem bei der experimentellen Milztransplantation ist darin zu sehen, daß es größte Schwierigkeiten macht, den Vitalitätszustand und die Funktion des transplantierten Organes zu überprüfen, bzw. den Endzeitpunkt einer Abstoßung des Organes zu erfassen (77, 114). Eine Möglichkeit bestünde in der Messung des Anstiegs an AHG (Antihämphiles Globulin) im peripheren Blut 3-10 Minuten nach einer Adrenalin-Injektion (77), andererseits kann bei Milzen, welche an die Halsgefäße transplantiert wurden, die Kontraktion des Organes eine Minute nach intravenöser Epinephrin-Injektion in cm-Genauigkeit abgemessen werden, wobei diese Kontraktion ca 24% der ursprünglichen Länge ausmachen soll (114). In Anlehnung an andere Arbeitsgruppen (z.B. 18) beschränkten wir uns der experimentellen Einfachheit halber auf die makroskopische Erscheinung und retrospektiv auf die histologische Begutachtung als Beurteilungskriterium für die Funktion der transplantierten Milz. Auch die Palpation des Abdomens erweist sich in der Zustandsbeurteilung der Transplantatmilz als brauchbar.

Akute nekrotisierende postoperative Pankreatiden waren zum Beginn der Experimente die häufigste Komplikation. Möglicherweise war der bei der 1. Operation am Hund A vorgenommene Eingriff an den Milzgefäßen mit Irritation der Cauda pancreatis kausal für die Pathogenese dieser Komplikation verantwortlich. Die durch die Unterbindung versorgender Gefäße aus der A. lienalis verursachte lokale Kreislaufstörung dieses Organteiles war wohl der entscheidende Entstehungsfaktor der hämorrhagisch nekrotisierenden Pankreatitis (60). Es gibt an der Bauchspeicheldrüse auch Anomalien, bei welchen corpus und cauda pancreatis ausschließlich durch die Milzarterie versorgt werden (103). Die Senkung des drüseneigenen Stoffwechsels führte über eine Schädigung des Drüsenparenchyms zur Autodigestion des Pankreas durch proteolytische und lipolytische Enzyme. Der Untergang von Pankreasgewebe ließ Kallikrein ansteigen, das wiederum andere vasoaktive Substanzen, wie Bradykinin aktiviert. Die resultierende Blutdrucksenkung verstärkte den schockähnlichen Zustand (2, 39, 128). Die traumatische Schädigung durch die Operation verstärkte den Zustand noch (127). Deshalb entschlossen wir uns zur Cauda-Resektion der Bauchspeicheldrüse im Anschluß an die Explantation der Milz bei Hund A in der 1. Operation. Auch andere Arbeitsgruppen, z.B. Wheeler et al. (161), berichten bei Milztransplantationsexperimenten von gelegentlichen distalen Pankreatektomien. Selbst bei sehr großzügiger

Pankreas-Resektion ist eine exkretorische und inkretorische Pankreasinsuffizienz postoperativ nicht zu befürchten, da der verbleibende processus uncinatus pancreatis beim Hund sehr groß angelegt ist. Dagegen ist im linken Oberbauch nach Splenektomie und Pankreas-cauda-Amputation eine exakte Blutstillung von großer Bedeutung. Wenngleich Nachblutungen hier hämodynamisch unwesentlich sein können, wird doch die Gefahr von Hämatom- und Koagelinfektionen dadurch wesentlich erhöht (113). In Anlehnung an spezielle Literatur über Pankreatitis-Prophylaxe und -therapie entstand das hier zur Anwendung kommende postoperative Versorgungsschema für Hund A nach der 1. Operation: - völlige orale Flüssigkeits- und Nahrungskarenz (2,39,60),
- Vagolyse (60,113),
- Spasmolytika zur Unterdrückung reflektorischer Auswirkungen von Schmerzen auf den Kreislauf (60,113),
- Infektionsprophylaxe (2,60,113),
- Aprotinin (12,60,132,155). Nach einer englischen Studie aus dem Jahr 1974 (155) bringt der Einsatz von Proteinaseinhibitoren gegen die akute Pankreatitis ein statistisch signifikant besseres Ergebnis.
- Infusionstherapie: in Anlehnung an die Vorschläge von Pichlmayr und Grotelüschen (113) und unter Berücksichtigung entsprechender Mengenreduktionen wurde eine möglichst bilanzierte Zufuhr von Kohlenhydratlösungen als Hauptenergielieferant und Aminosäuren zur Proteinsynthese angestrebt. Dabei wurde von folgenden physiologischen Orientierungswerten für den Hund ausgegangen: Kalorienbedarf für den Grundumsatz: 2,4 kcal/kg KG · h; Infusionsvolumen: ca. 1000ml/24h (80).

Es kann als bewiesen angesehen werden, daß eine konsequent durchgeführte 'low-dose-heparine'-Prophylaxe das Thromboserisiko signifikant senkt (2,100,111). Diese Heparinisierung muß einerseits gering genug sein, um eine wesentliche Verminderung der Blutgerinnung zu verhindern, andererseits groß genug, Thrombenentstehung zu vermeiden. Obgleich gesichertes Beweismaterial noch nicht in ausreichender Menge vorliegt, betrieben wir in 14 Fällen zusätzlich eine medikamentöse α -Rezeptorenstimulation, in der Absicht, in den Kapazitätsgefäßen der Milz eine Tonussteigerung hervorzurufen. Nach einer Injektion von 0,75mg Dihydroergotamin soll sich das Blutvolumen im venösen Pool signifikant verringern (111). Wir erhofften uns durch diese Tonisierung der Blutgefäße eine verbesserte Blutzirkulation in der Milz. Aus einer gestörten Hämodynamik in der Milz resultiert eine Hämostase, welche ein möglicher Triggermechanismus für die Entstehung venöser Thromben war. Auch an anderen Versuchstieren sind solche Milzvergrößerungen post transplantationem beobachtet worden (97, Ratte), jedoch in geringerer Häufigkeit. Die Kombination eines Gerinnungshemmers, eines Aktivators der Zirkulation und eines kolloidalen Plasmaexpanders setzte in unseren Experimenten die Gefahr des thrombotischen Verschlusses der Milzgefäße deutlich herab. Ob diese Tatsache nun allein auf die Heparinisierung zurückzuführen ist, oder ob tatsächlich eine additive Schutzwirkung von Heparin und DHE vorliegt, wie von manchen Autoren postuliert (64,100,106,111), war nicht Gegenstand dieser Untersuchungen.

Normalerweise beeinflußt die täglich verabreichte Heparin-Menge von 2.500 IE/Tag 10 kg KG das Blutungsrisiko so gut wie nicht. Das Problem aber bestand darin, daß wir intra- wie postoperativ Dextran applizieren mußten, um posttransplantationem eine gute Milzperfusion zu gewährleisten. Da also die Therapie mit Volumenersatzmitteln mit antithrombotischer Wirkung als zwingend angesehen werden mußte, weil wir auf eine anhaltende Zunahme des zirkulierenden Blutvolumens durch die kolloidosmotischen Eigenschaften des Dextrans nicht verzichten wollten, wurde bei der Anlegung der Anastomosennähte an A.lienalis und A.renalis bzw. an V.lienalis und V.renalis besonders auf eine enge Stichführung geachtet und eine sorgfältige Blutstillung betrieben.

4.2.3. Innervation der Hundemilz und Konsequenzen für die Transplantation dieses Organes

Die Milz des Hundes reagiert auf eine Transplantation mit einer deutlichen Größenzunahme. Die dadurch bedingte Hämostase kann die Entstehung von Thromben begünstigen. In diesem Kapitel soll die Möglichkeit erörtert werden, ob die "nervale Abkopplung" der Milz bei der Explantation als Ursache für die Größenzunahme nach Wiederanschluß an das Gefäßsystem verantwortlich ist.

Die Hundemilz wird von der linken Körperhälfte her innerviert, wobei diese Nerven immer als Arterien umgebende Geflechte verlaufen (62). Die sympathische Innervation der Milz erfolgt aus den Thorakalsegmenten 5 und 6 über Grenzstrang, Nn. splanchnici maior et minor und Ganglion coeliacum (62). Die Splanchnikusnerven üben eine vasokonstriktorische Kontrolle auf die Milz aus. Eine Splanchnikuslähmung führt zu einer gefährlichen Vasodilatation mit Schocksymptomatik. Andererseits reagiert die Milz auf eine Splanchnikusreizung oder eine Adrenalin-Injektion mit einer deutlichen Milzkontraktion.

Der parasympathische Anteil gehört zu dem aus den vegetativen Zentren der Medulla oblongata stammenden N.vagus, wobei die Innervation zusammen mit Magen, Leber, Pankreas, Nebenniere, Niere und Dünndarm erfolgt. Diese Vagusinnervation läuft über die anatomischen Substrate Plexus oesophageus, truncus vocalis posterior, plexus gastricus posterior und plexus coeliacus. Die Hilusnerven verzweigen sich dann in ein Geflecht von Milzkapselnerven ("plexus lienalis", 62). Dieser Plexus lienalis umgibt die stark geschlängelte A.lienalis. Nach Harting (zitiert bei 62) treten die aufgezweigten Nervenfasern dann aus dem lig. gastrolienale entlang den Gefäßen an rund 45 Stellen im Bereich des Hilus in die Milz ein. Im Organ selbst befinden sich keine Ganglienzellen. Die Hundemilz besitzt eine Pulpamuskulatur, daher finden sich sowohl periarteriell wie auch in der Pulpa Nervengeflechte, zumeist aus marklosen Fasern. Die Anzahl dieser Nervenfasern nimmt mit der Anzahl glatter Muskelfasern proportional zu (62). Die Kapsel der Hundemilz ist von einem dichten Netzwerk von Nerven durchzogen, während die Milzvenen beim Hund besonders nervenarm sind (62).

Die Milz des Hundes ist eine sogenannte 'Speichermilz' (auch 'Retikulummilz', 62) mit großen und vielen glatten Muskelzellen in der Kapsel und besonders entlang des Trabekel-

werkes (156), wo diese glatte Muskulatur auffällig stark entwickelt ist (62) (im Gegensatz zu den 'Abwehr'- oder 'Sinus'-Milzen (62), wie z.B. beim Menschen, ohne jede Speicherfunktion). Dieses Speicherorgan kann beim Hund ca. 1/16 bis 1/5 der gesamten Blutmenge in eingedickter Form als Erythrozytenkonzentrat nach Plasmaentzug aufnehmen (16). Diese gedehnten Speichermilzen können dann ihren Blutinhalte durch aktive Kontraktion wieder vermindern. Eben dazu dienen die in der bindegewebig-elastischen Grundstruktur des Organes geflechtartig angeordneten Muskelstrahlen. Nach Harting (58) zeigt eine denervierte Hundemilz gürtelförmig gelähmte Zonen, die erschlaft, ohne Tonus und aufgetrieben sind und die den Versorgungsgebieten der durchschnittenen Nerven entsprechen.

Bei den hier beschriebenen Milztransplantationen wurde die Innervation des zu transplantierenden Organes zwangsläufig total durchtrennt. In wie weit die teilweise extremen Größenzunahmen der allogenen Milzen post transplantationem im Empfänger (1 Hund verblutete in die Milz!) aufgrund der beschriebenen anatomischen Substrate dem Abtrennen des Organes von seiner Innervation abgelastet werden müssen, bleibt offen. Die von Harting (58) beschriebenen Beobachtungen an denervierten Hundemilzen sind aber durch unsere Experimente unterstrichen worden. Berechtigt erscheint folglich aus dieser Sicht die selbstkritische Frage, ob denn die Hundemilz als eine extreme Speichermilz (das involviert die wichtige Rolle einer kontraktionsfähigen Muskulatur mit Innervation) für eine experimentelle Transplantation das optimale Modell darstellt.

4.2.4. Abhängigkeit immunologischer Ergebnisse vom systemischen oder portalen Gefäßanschluß der transplantierten Milz

Die Funktion der Milz als Speicherorgan für alle Blutzellen, als großes Filter für die Blutzellmauserung (16), vor allem der Erythrozyten, bedingen eine reichliche Durchblutung dieses Organes. Das 'Milz-Minuten-Volumen' ist mit 500-750ml Blut/min. hoch und entspricht dem 'Nieren-Minuten-Volumen' (39). Insgesamt entfällt auf alle Organe des Splanchnikus-Gebietes ein ca. 25-30%iger Anteil am HMV-Durchfluß und ein rund 20%iger Anteil am Gesamtblutvolumeninhalt (80).

Die A. lienalis beim Hund verläuft cranial der V. lienalis. Sie teilt sich spitzwinklig in zwei Hauptstämme, von denen der craniale, kleinere sich wiederum in 3-5 Äste aufgabelt (62). Aus dem caudalen, größeren Hauptstamm gehen die ersten Abzweigungen als Rr. pancreatici in corpus und cauda der Bauchspeicheldrüse. Das venöse Blut aus der Milz wird über die V. lienalis in den portalen Kreislauf entsorgt.

Bei der in dieser Arbeit beschriebenen Transplantationstechnik wird die Milz durch die heterotrope Transplantation an A. und V. renales, nicht - wie physiologisch normal - an das portale Venensystem, sondern an den cavalen, systemischen Kreislauf angeschlossen.

Es ist oft diskutiert worden, ob es bei der Überlebenszeit von Allotransplantaten einen Unterschied gibt, je nachdem, ob das allogene Transplantat an den cavalen oder an den portalen Kreislauf angeschlossen wird. Bei der portalen Venenblutdrain-

nage würden die Antigene, die möglicherweise das transplantierte Organ auf dem Blutweg verlassen, zuerst die Leber passieren, ehe sie in den systemischen Kreislauf ausgeschwemmt würden (5). Diese 'Leber-Antigen-Barriere' entfällt beim systemischen venösen Anschluß.

Es hat eine Reihe von Untersuchungen gegeben, die eine abgeschwächte Immunantwort bei portaler Antigendrainage nahelegten. Eloy et al. (41) fanden bei F1-hybriden Ratten eine verminderte GVHR, wenn allogenenes lymphatisches Gewebe bei der Implantation an den portalen Kreislauf angeschlossen wurde. Die Wichtigkeit dieser portalen Drainage wurde nach ihrer Ansicht durch die Existenz einer 'splenohepatischen Suppressor-Achse' begründet. Der schützende Effekt der Leber vor einer GVHR ('runt de-sease') wird durch die Existenz von Suppressor-T-Zellen erklärt, deren Differenzierungsstätte die Leber sein könnte (41). Fukuda et al. (50) konnten zeigen, daß second-set-Reaktionen (= Immunreaktion eines Organismus auf ein zweites allogenes Transplantat) günstiger bei portaler Antigen-drainage einfließen werden, d.h. daß im speziellen Fall allogene Nieren nur nach einer first-set-Reaktion (=Immunreaktion eines Organismus auf das erste allogene Transplantat) abgestoßen werden. Wenngleich die Frage, ob portal oder systemisch appliziertes Antigen im Organismus unterschiedlich behandelt wird, noch nicht abschließend beantwortet werden kann (50), vertritt doch die Mehrzahl der Autoren die Ansicht, daß funktionelle Überlegungen bei der Wahl eines heterotopen Transplantationsortes für die Milz keine Rolle spielen (5,37,50,89,101,102). Starzl et al. (102) und Barker et al. (5) konnten in umfangreichen Experimenten an nicht ingezüchteten Hunden zeigen, daß sich die Überlebenszeit von allogenen Transplantaten (z.B. Nieren), die entweder caval oder portal angeschlossen worden waren, statistisch nicht signifikant unterschied. Diese Ergebnisse werden auch durch ähnliche Arbeiten anderer Gruppen gestützt (37, 50,101). Auch ergaben die histologischen Untersuchungen bei vergleichenden Experimenten am Hund in abgestoßenen allogenen Nierentransplantaten keine "günstigeren" Veränderungen, wenn diese portal implantiert worden waren (102). Die Antigenschwemmung in den portalen, anstatt in den systemischen Kreislauf scheint also keinen nachweisbaren immunologischen und histologischen Unterschied zu verursachen.

4.3. Immunologischer Teil des Experimentes

In der experimentellen Chirurgie nimmt der Weg zur Auffindung neuer Erkenntnisse seinen Ausgang im grundlagenwissenschaftlichen Experiment am kleinen Laboratoriumstier (ingezüchtete Nager) und verläuft über eine versuchte Verifizierung dieser Erkenntnisse im klinischen Modell am nicht-ingezüchteten Großtier (Hund, Schwein) hin zur Phase einer ersten klinischen Erprobung (22). Was die Thematik der spezifischen Immunsuppression mit Hilfe von Suppressor-T-Lymphozyten (7,25,26,49,57,141, 142,148) und anti-idiotypischen Antikörpern (3,8,13,14,17,18, 19, 20,21,24,47,75,79,104,141,147,148,149,150,157,162) betrifft, gibt es auf der Stufe der immunologischen Grundlagenforschung an Ratte und Maus eine Reihe positiver, sehr ermutigender Ergebnisse, was die Verlängerung der Überlebenszeiten allogener

Organtransplantate betrifft. Gleichzeitig postulieren die Autoren dieser Arbeiten als Konsequenz ihrer Resultate den Versuch, die an ingezüchteten Nagern beobachteten Phänomene am nicht-ingezüchteten Großtier zu erforschen. Von den wenigen, in der Literatur verfügbaren Ergebnissen (37,82,92,126) zu dieser Problematik an der Spezies Hund seien kurz, sozusagen als Diskussionsgrundlage, die wesentlichen Punkte genannt. Kountz und Cohn (82) fanden beim Hund eine verlängerte Überlebenszeit allogener Nierentransplantate, wenn gleichzeitig das Empfängertier splenektomiert wurde und die Milz des Spenders ebenfalls in den Empfänger allogenen transplantiert wurde. Als Erklärung für ihre Resultate stellen Kountz und Cohn die These auf, daß der Überschuß von Spender-Antigenen im Empfänger einen Zustand vorübergehender immunologischer Unempfindlichkeit des Empfängers gegen die allogenen Transplantate (Niere und Milz) bewirkt hat. Dagegen finden Dubois et al. (37) bei simultaner allogener Nieren- und Milztransplantation am Hund keine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit beider allogener Transplantate. Sampson et al. (126) verabreichten am 4.Tag nach einer allogenen Nierentransplantation beim Hund dem Empfängertier kultivierte autologe Milzzellen ($2 \cdot 10^8$ Zellen). Nach ihren eigenen Angaben ähneln die dabei erzielten Versuchsergebnisse am Hund den Beobachtungen anderer Versuchsgruppen an Nagern (126). In ähnlicher Weise behandelten Lie et al. (92) nicht verwandte Beaglehunde mit Milz-Antigen und hohen Prednisolon-Dosen vor und fanden ebenso eine deutliche Verbesserung der Transplantatüberlebenszeiten allogenen transplanterter Nieren, was durch 'blockierende Antikörper' bzw. durch 'Antigen-Antikörper-Komplexe' erklärt wurde. Mit der in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsanordnung, könnte ein transplantatprotektiver Effekt der Milz bezüglich der Niere nicht gezeigt werden. Mögliche Ursachen für die Divergenz der Ergebnisse dieser Experimente und der zugrunde liegenden Literatur sollen aus immunologischer Sicht im folgenden diskutiert werden.

4.3.1. Physiologische und anatomische Unterschiede der Milzen verschiedener Arten

Gerade am Organ Milz ist es sehr schwierig, experimentelle Ergebnisse, die an einer bestimmten Spezies (z.B Ratte, Maus) gewonnen wurden, auf eine andere Tierart (z.B. Hund) zu übertragen.

Die Milz stellt als sekundäres lymphatisches Organ die größte Anhäufung von retikuloendothelialeem Gewebe im Säugerorganismus dar (76). Sie ist zusammen mit den Lymphknoten als Bildner von Plasmazellen und Lymphozyten bei Immunreaktionen tätig und repräsentiert ca. 30% des lymphatischen und retikuloendothelialen Systems. Die Hundemilz als extreme Speichermilz ist sehr lymphozytenarm und besitzt nur wenig weiße Pulpa (der Anteil der weißen Pulpa an der Milz ist im Tierreich sehr unterschiedlich: Hund: extreme Speichermilz, nur 3% weiße Pulpa, dagegen Kaninchen als Abwehrmilz 35% weiße Pulpa). Die weiße Pulpa der Milz setzt sich aus T-Zellen (periarterioläre Lymphozytenanhäufungen) und B-Zellen (Primärfollikel) zusammen (9).

Als Zelltypen kommen in der Milz vor: Lymphozyten, Granulo-

zyten, Plasmazellen, Monozyten, Megakaryozyten, Thrombozyten und Makrophagen. Da im anatomischen Netzwerk der Milz Antikörper filtriert und konzentriert werden, bestehen morphologisch günstige Voraussetzungen für einen engen Kontakt zwischen dem Antigen aus der Blutzirkulation und den Lymphozyten (76), die in der Milz rezirkuliert und neugebildet werden (16). Wenn die Wände der Milzsinus erschlafft und geweitet sind wie 'Flutkammern', dann stagniert dort das Blut und die Blutzellen sind dem Einfluß der in der Milz wandständigen Zellen intensiv ausgesetzt, was möglicherweise Immunisierungsvorgänge begünstigt. Auch Hay und Morris (59) unterstreichen die guten physikalischen Voraussetzungen für Antigen-Antikörper-Reaktionen in der Milz. Außerdem ist die Milz das Hauptorgan, das zirkulierende Antikörper produziert (Rowley 1950, Adler 1965).

Nach Vaupel et al. (156) nimmt der Blutfluß durch die Milz mit der Intensität einer immunologischen Reaktion des Organismus zu. Gleichzeitig vermehren sich dann alle Anteile des Milzgewebes, besonders aber weiße Pulpa und Sekundärknötchen (62). Besonders in der Transplantationsmedizin ist die Milz oft mit ins immunologische Kalkül gezogen worden. In einer Vielzahl von immunologischen Systemen wurde die Rolle der Milz in der Transplantationsimmunologie untersucht. Hier sollen einige der Ergebnisse genannt werden, die im Zusammenhang mit dieser Arbeit möglicherweise von Interesse sind.

Im Zusammenhang mit allogenen Nierentransplantationen beim Menschen gehen die Meinungen für und wider einer adjuvanten Splenektomie nach wie vor weit auseinander (4,32,40,53,110,115,123,136,152). Starzl, Hume, Veith, Luck, Murray, Bennet, Opelz und Terasaki, Pierce et al. sowie Souther et al. konnten keinen signifikanten Einfluß einer Splenektomie des Transplantatempfängers allogener Nieren auf die Überlebenszeit des Transplantates feststellen (40,110,123). Andere sprechen sogar von einer signifikant erhöhten Mortalitätsrate von Empfängern allogener Nierentransplantate, die vorher oder gleichzeitig mit der Transplantation splenektomiert wurden (32,115). Dagegen berichten Swanson et al. von signifikant weniger Transplantatabstoßungen bei Patienten, die vor oder nach der Transplantation splenektomiert wurden und führen diesen Splenektomieeinfluß auf eine erhöhte Azathioprin-Toleranz des Organismus zurück (152). Während andere Arbeitsgruppen diese Ansicht teilen (40,136), finden Rai et al. nur einen vorübergehenden Anstieg der Leukozyten nach Splenektomie bei gleichzeitiger Azathioprin-Exposition (115). Ob bei einer zweiten Nierentransplantation beim Menschen eine hyperakute Sekundärreaktion durch Splenektomie verhindert werden kann, ist ebenfalls noch kontrovers (110,123).

Auch in der experimentellen Transplantationsmedizin widersprechen sich die Ansichten hinsichtlich der Nützlichkeit einer Splenektomie im Zusammenhang mit der Transplantation allogener Nieren. Während Farber et al. (44) und Dostal (35) eine verlängerte Transplantatüberlebenszeit bei der Ratte nach vorausgegangener Splenektomie fanden, konnten Kountz und Cohn (82) am Hund keinen Einfluß der Splenektomie auf die Überlebenszeit allogener Nierentransplantate feststellen.

Vielleicht liegt in den physiologischen und anatomischen Unterschieden der Milzen verschiedener Spezies der Schlüssel zur

Erklärung der oft starken Divergenz der Ergebnisse in der experimentellen Transplantationsforschung an der Milz. Während an Nagern die Existenz einer T-Zellsubpopulation, welche eine Reaktion des Transplantates gegen den Empfänger (=GVHR, graft versus host reaction) abbrechen und eine Immunantwort des Empfängers gegen das Spenderorgan (=HVGR, host versus graft reaction) unterdrücken kann, längst gezeigt werden konnte, schlugen Nachweisversuche dieser Art am Hund bis jetzt fehl. Auch bezüglich anderer immunologischer Beobachtungen, wie z.B. der Einfluß von Splenektomie auf die Überlebenszeit allogener Nierentransplantate, laufen die Ergebnisse am Nager und am Hund völlig konträr auseinander (44,82,125).

Möglicherweise ist auch in diesem Fall die Ursache dafür, daß die Resultate unserer Versuche mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen am Nager nicht deckungsgleich sind, in der unterschiedlichen "immunologischen Potenz" der Milz von Hund und Nager zu suchen.

4.3.2. Immunisierung der Hunde, Plaque-Test und Zellchimaerismus

Das in diesen Experimenten beschriebene Immunisierungsschema kam deshalb zur Anwendung, weil zwischen den beiden xenogenen Erythrozytenarten, SRBC und HRBC, keine signifikante Kreuzreaktivität im Antikörperspiegel bekannt ist (143). Das Antigen-Applikationsschema (Abb. 29 und Abb.30) trägt der Tatsache Rechnung, daß eine Immunisierung auch vom Eintrittsort des Antigens abhängig ist und B-Lymphozyten im Gegensatz zu T-Lymphozyten mehrheitlich seßhaft sind (76). Nach i.v.-Injektionen von Antigen stammen die gebildeten Antikörper vorwiegend aus der Milz, während die anderen parenteralen Immunisierungswege (s.c. und i.nodulär) mit weitgehendem Ausschluß der Milz über die regionalen Lymphknoten laufen (76,151). Für die 1.Antigenapplikation in den N.lymphaticus popliteus wurde Freundesches Adjuvans den xenogenen Erythrozyten zugesetzt. Durch das Mineralöl als Emulgatorzusatz entstehen Wasser-Öl-Emulsionen wasserlöslicher Immunogene (feinste Wassertröpfchen die das Immunogen enthalten, sind von Öl umgeben), wodurch die Immunogenität der verabreichten Fremdzellen verstärkt wird, da das Antigen dem Immunapparat in besonders günstiger Form angeboten wird (13,76).

Die vor fast zwei Jahrzehnten von Jerne, Henry und Nordin, Ingraham und Bussard (67,68,70,71) eingeführte Methodik des 'hemolytic plaque forming assay' stellt eine revolutionäre Methode zur exakten Untersuchung der Zellkinetik dar, weil damit antikörperproduzierende Zellen in den lymphoiden Organen von Maus, Ratte und Kaninchen einzeln nachgewiesen werden können. Diese sog. 'direkte Methode' wurde später noch von Sterzl und Riha, Dresser und Wortis (36,145) durch eine sog. 'indirekte Methode' ergänzt. Die 'direkte Methode' eignet sich zum Nachweis von Antikörper der IgM-Klasse, während die 'indirekte Methode' zur Demonstration der Antikörperbildung aus der IgG-Klasse dient. Wir versuchten nun bei unseren Versuchen, diese an Mäusen, Ratten, Kaninchen und an sieben verschiedenen Schweinerassen (27,36,67,68,70,71,133,145) erprobten Methoden

auf das System Hund zu übertragen.

Außerdem kam eine agarfreie Methode zur Darstellung von 'plaque forming cells' (PFC) von Axelrad und Kennedy (34,78, 129) zur Anwendung. Diese erstmals 1971 am Versuchstier Maus beschriebene Methode stellt eine Verbesserung des Ansatzes zum Nachweis von PFCs dar, weil Wechselwirkungen zwischen Agar und den Effektor- bzw. zwischen Indikatorzellen und Agar ausgeschlossen werden können. Die dort beschriebene Methode, welche die Einfachheit und die Sensibilität eines 'monolayer-Ansatzes' besitzt, wurde inzwischen auch auf andere Versuchssysteme, wie z.B. "Miniature Swine" (129) und Humantonsillen (34) mit Erfolg übertragen. Wir versuchten einen Transfer der dort beschriebenen Methodik auf unser System der Hundelymphozyten.

Es ist verwunderlich, daß es mit keinem der durchgeführten Versuchsansätze gelang, mit Hilfe von Ficoll-separierten Hundelymphozyten PFCs gegen SRBC gegen HRBC nachzuweisen, obgleich der Nachweis humoraler Antikörper gegen SRBC und HRBC eindeutig positiv ausfiel. In der Literatur berichten auch andere Experimentatoren (133) von gescheiterten Versuchen, mit vergleichbaren Methoden PFCs gegen SRBC beim Hund nachzuweisen. Als Ursache dafür können folgende Versuchsparameter diskutiert werden:

1. Möglicherweise besitzen die mittels der Ficoll-Separation aus dem peripheren Blut gewonnenen Hundelymphozyten eine mangelnde lytische Potenz, um Plaques im Erythrozyten-Agar zu erzeugen (133).
2. Vielleicht werden die Lymphozyten trotz Senkung der Temperatur auf 42°C beim Einbetten in den Agar hitzegeschädigt. Eine weitere Reduktion der Temperatur des flüssigen Agars ist aber unmöglich, weil dieser anderenfalls fest wird. Gegen diese Annahme spricht außerdem, daß sich mit der agarfreien Methode ebenfalls keine PFCs darstellen ließen.
3. Verwendung eines nicht optimalen Komplementes zur Lyse der HRBC und SRBC: weder bei Verwendung von Kaninchen- noch von Meerschweinchenkomplement war eine Plaque-bildung festzustellen. Dagegen wurde beim modifizierten Mancini-Test mit den gleichen Komplementsorten eine Lyse der Erythrozyten im Agar erreicht.
4. Die Versuchstiere waren gegen SRBC und gegen HRBC nicht optimal immunisiert:
Wurde nicht oft genug immunisiert? Schmidt (133) immunisierte innerhalb von 3 Wochen 6mal, allerdings nur subkutan, und konnte am Hund auch keine PFCs feststellen.
War die Zeitspanne zwischen Immunisierungen und Nachweisversuch zu kurz? Binz (14) wartete bei Nagern nach der Immunisierung 14 Tage. Ein Vorversuch am Hund mit seinem Immunisierungszeitplan erbrachte ebenfalls keine PFCs.
War die zur Immunisierung verwendete Menge an Erythrozyten zu gering? In diesem Versuch wurden dreimal $1,8-2,5 \cdot 10^9$ Zellen verabreicht, das entspricht etwa einer Gesamtmenge von rund $2 \cdot 10^8$ Zellen/kg KG Hund. Vergleichswerte aus der Literatur: $2-3 \cdot 10^{10}$ Zellen/kg KG Ratte oder Maus (14,133), $2 \cdot 10^8$ Zellen/kg KG Schwein (27). Es muß hier erwähnt werden, daß es bei dem in dieser Arbeit beschriebenen und angewandten Immunisierungsschema bei 2 Hunden zu einer schweren anaphylaktischen Reaktion nach der 3. Antigengabe kam. Mög-

licherweise stellt die vergleichsweise mit Nagern niedrige Fremderythrozytenmenge eine Obergrenze für Antigenapplikation dieser Form dar, welche beim Hund eben noch ohne Schädigung toleriert wird.

Es läßt sich nicht eindeutig beantworten, ob in den hier durchgeführten Experimenten im Empfängerhund A nach der zweimaligen Milztransplantation ein permanenter oder ein temporärer Zellchimärismus erzeugt wurde. Chimärismus würde im speziellen Fall bedeuten, daß Hund A in seinem Blutkreislauf Blutzellen zweier verschiedener genetischer Ursprünge besäße (76). Durch die positiven Versuchsergebnisse des direkten Hämagglutinationstestes und des modifizierten Mancini-Testes konnten zwar Antikörper gegen SRBC und gegen HRBC im Serum der Tiere nachgewiesen werden, das Scheitern der verschiedenen Versuchsansätze zur Gewinnung von PFCs durch die Spezies Hund ermöglichte aber keine direkte Darstellung dieser antikörperproduzierenden Zellen, die ja z.T. (je nachdem, ob gegen SRBC oder gegen HRBC gerichtet) dem jeweils anderen Hund aus einer Versuchspaarung hätten entstammen müssen. Der einmalige Nachweis eines Transfers von Lymphozyten mit Histokompatibilitätsanti gegen von Hund B auf Hund A kann als Resultat sicher nicht verallgemeinert werden. Da dieses Ergebnis aber in Richtung der Erzeugung eines Zell chimärismus interpretiert werden könnte, ist es sicher von Interesse, die Frage eines Lymphozytentransfers durch die transplantierte Milz mit DLA-Antigennachweis an größeren Fallzahlen nochmals aufzugreifen.

4.3.3. Immunologische Aktivität der Milz von Hund A in Hund B

Vorweg sollen kurz einige der Ergebnisse der histologischen Untersuchungen der zweimal transplantierten Milzen erörtert werden. Besonders auffällig waren die zahlreichen Plasmazellen, welche die Follikel und die Sinus durchsetzten, und die sehr dicht zusammen lagen. Die Follikel waren nicht nekrotisch. Diese Beobachtungen machte auch Bitter-Suermann an Rattenmilzen (15). Verglichen mit normalen Kontrollmilzen war die Follikelgröße vermehrt. Diese stark vergrößerten, hyperblastischen Follikel beschrieben auch andere Autoren (95,105,161), ebenso wie die verwaschene Abgrenzung der Follikel gegenüber der Pulpa, welche oft die Identifizierung der Follikel schwierig machte. Als Hinweis auf eine gesteigerte zelluläre Aktivität der Follikel können die beobachteten Mitosen interpretiert werden.

In der roten Pulpa imponierten vermehrt Granulozyten, die auch auf den Randbereich der Follikel übergriffen. Ob diese Beobachtung aber in Hinblick auf eine Abstoßung der allogenen Milz als Indiz interpretiert werden kann, ist sehr fraglich, da Literaturangaben zufolge mit ersten Anzeichen einer Transplantatreaktion erst ab dem 5. bis 7. Tag post transplantatorem gerechnet werden kann (96,105,139,161). Die für eine akute Transplantatreaktion typischen Gefäßwandinfiltrate mit mononukleären Zellen, wie andere Autoren sie beschreiben (16, 161), wurden hier nicht gesehen. Die regelmäßig angetroffene deutliche Zellarmut der roten Pulpa wird auch von anderen festgestellt (16,96,105). Möglicherweise ist sie Ausdruck einer Immunreaktion des Empfängers gegen die allogene Milz.

Möglicherweise löst die allogen in Hund B implantierte Milz von Hund A im splenektomierten Hund B nach der 1. Operation eine GVHR aus, indem sie selbst gegen Hund B immunologisch aktiv wird. In den Experimenten von Bitter-Suermann (15,16,17,18,19,20,21) führte die Splenektomie der Empfänger-Ratte eines allogenen Milztransplantates zu einer letalen GVHR der Milz gegen das Empfängertier. Auch Kountz und Cohn (82) berichten, daß bei ihren allogenen Milztransplantationen am Hund, verbunden mit gleichzeitiger Splenektomie des Empfängertieres, einige Hunde 5-7 Tage nach der Milztransplantation eine sog. 'wasting disease' (=GVHR) entwickelten und in einem kachektischen Zustand verstarben. Klinisch boten diese Tiere an Symptomen: Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Anämie und hämorrhagische Diarrhoen. Ähnliche Beobachtungen am Hund machte auch Wheeler (161). Von allen mit der Technik einer direkten Gefäßanastomosierung zu transplantierenden Organen ist die Milz mit ihrer Vielzahl immunologisch kompetenter Zellen wohl das Organ, das am ehesten für einen immunologischen Angriff auf den Empfängerorganismus in Frage kommt (161). In analoger Weise zu den lymphatischen Zellen des Empfängers, welche fremde Transplantationsantigene erkennen und sie dann durch eine Transplantatreaktion ausschalten können, muß es auch den lymphatischen Zellen im allogenen Transplantat Milz möglich sein, gegen die Transplantationsantigene des Empfängers vorzugehen. Dies ist das Konzept einer bilateralen immunologischen Reaktivität zwischen Transplantat und Empfänger (16). Vielleicht wurde die immunologische Reaktionsfähigkeit von Hund B durch die Splenektomie so geschwächt, daß das allogene Milztransplantat aus Hund A eine GVHR gegen Hund B ansetzen konnte. Einige Autoren (15,19,20) stützen diese These, andere Arbeitsgruppen lehnen sie ab (37,89,161). Für eine solche immunologische Eigenreaktivität der Milz im Sinne einer solchen GVHR sprechen möglicherweise die gelegentlich erkennbaren Mitosen in den hyperplastischen Follikeln (105,161). Auch die Rolle der vielen Plasmazellen in der Milz ist unklar. Möglicherweise erfolgte hier die Antikörperbildung gegen den Hund B als Wirt, da die Follikel auch auffällig gut erhalten sind und keine Nekrosen aufweisen. Ob aber diese mögliche GVHR in der Lage war, die später zu transplantierende Niere zu schädigen, oder ob die nach Ansicht Wheelers (161) stärkere HVGR des Wirtes gegen das Transplantat dies unterdrückte, kann nach den hier vorliegenden Untersuchungsergebnissen nicht beantwortet werden.

Es muß betont werden, daß es relativ unzuverlässig ist, lediglich aufgrund der histologischen Proben aus der Milz auf eine GVHR zu schließen. Der histologische Milzbefund kann nur einen Hinweis auf eine möglicherweise stattgefundene GVHR geben. Zur Klärung dieser Frage müßten auch andere Organproben aus dem Empfängertier der allogenen Milz (Hund B) genommen werden (z.B. aus Leber, Lymphknoten, Lunge, Niere). Eine mögliche Erweiterung der Versuchsanordnung hierzu wäre der Einsatz der Feinnadelbiopsie. Damit könnten zu verschiedenen Zeiten nach der 1. Operation (= Milzimplantation in Hund B) aus der später allogen zu transplantierenden Spenderniere Zellaspirate gewonnen werden, an Hand dieser sich die Frage möglicherweise klären ließe, ob die Milz von Hund A in der Niere von Hund B immunologische Veränderungen verursacht.

4.4. Mögliche Modifikation des Versuchsansatzes

Es könnte sein, daß bei der hier beschriebenen Versuchsanordnung die rücktransplantierte, immune Milz dem nicht-immunen lymphatischen System von Hund A in ihrer Wirkung zeitlich vorseilt. Noch ehe das nicht-immune lymphatische System von Hund A anti-idiotypische Antikörper oder Suppressor-T-Zellen bilden kann, greift die bereits gegen DLA-Antigen von Hund B sensibilisierte Milz von Hund A die allogene transplantierte Niere von Hund B an. Die postulierte Produktion von anti-idiotypischen Antikörpern und Suppressor-T-Lymphozyten, welche die Abstoßung des allogenen Organes verhindern sollten, kommt somit zu spät.

Möglicherweise könnte durch eine Modifikation des Zeitplanes bei der Milzrücktransplantation und bei der allogenen Nierentransplantation, z.B. durch die Verlängerung des Intervalles bis zur Nierentransplantation, ein ähnliches Resultat wie bei Nager-Experimenten erzielt werden.

Stuart, McKearn und Fitch (148,149) hatten bei ihren Versuchen mit ingezüchteten Lewis- und BN-Ratten eine "auffallende Unterdrückung der Organabstoßung" feststellen können, welche sie auf die Bildung von antiidiotypischen Antikörpern zurückführten. Dabei stellten sie fest, daß am 10.Tag nach Antigengabe (LBNF₁-Milzzellen) an das Empfängertier (Lewis-Ratten) eine maximale Konzentration an antiidiotypischen Antikörpern (L_W(L_WBN)Antikörper) in diesem Tier bestand, welche die Abstoßung allogener Nieren (LBNF₁-Nieren), die an diesem Tag auf die Lewis-Ratten transplantiert wurden, unterdrückte. Transplantationen vor und nach diesem Zeitpunkt führten zu den gleichen Abstoßungen wie in Kontrollversuchen. Diese Ergebnisse werden auch durch Versuche von Bramis, Schanzer und Taub untermauert (24). Daß in Langzeitüberlebenden keine zirkulierenden Anti-idiotypen nachzuweisen waren, führten Stuart et al. (148) auf die angewandte Meßmethodik zurück. Allerdings räumen die gleichen Autoren auch ein, daß die postulierte, suppressive Form der antiidiotypischen Antikörper zwar bei der Ratte, nicht aber beim Kaninchen und vor allem derzeit nicht am Hund gezeigt werden kann (147). Dagegen fand Bitter-Suermann (16), daß in einer bestimmten Rattenkombination 6 Wochen nach erfolgreicher allogener Milztransplantation allogene Hauttransplantate toleriert werden, während diese in den ersten 4 Wochen nach der allogenen Milztransplantation abgestoßen werden. Taub, Schanzer und Bramis (154) berichten, daß die zelluläre Reaktivität von Empfängerzellen (Lewis-Ratte) gegen LBNF₁-Antigene im Laufe des 3. Monats nach allogener Milztransplantation auf ein Minimum absinkt.

Wenngleich, den Literaturangaben zufolge, noch kein Einverständnis über den Zeitpunkt eines Maximums der spezifischen Immunsuppression besteht (siehe oben), so ist doch die Vorstellung, die man von der Ausbildung einer solchen 'specific unresponsiveness' hat, ziemlich einheitlich. Nach Bitter-Suermann (16) läßt sich dieses Geschehen in zwei Stadien einteilen:

- 1.Phase: Etablierung eines Zellchimärismus oder Verarmung an immunreaktiven Zellen im Empfängertier.
- 2.Phase: Bildung eines 'blockierenden Serum-Faktors' (sozusagen ein 'intrinsic ALG') im einem kontinuierlichen dynamischen Vorgang, der von Zellen aufrecht erhalten wird, welche aus dem Spendertier stammen.

Möglicherweise erfolgte in unseren Experimenten die allogene Nierentransplantation zu einem Zeitpunkt, da ein Maximum an spezifischer Immunsuppression in Hund A noch nicht gegeben war. Für einen neuen Versuchsansatz ergibt sich daraus die Konsequenz, daß die allogene Nierentransplantation von Hund B auf Hund A erst nach Ablauf eines noch unbestimmten Zeitintervalls nach der autologen Milzrücktransplantation von Hund B auf Hund A durchgeführt werden sollte (Abb. 69).

Die Länge des Zeitintervalles könnte dadurch bestimmt werden, daß nach der 2.Operation (= autologe Milzrücktransplantation) ein Monitoring der aktuellen immunsuppressiven Aktivität in Hund A gegen DLA-Antigene von Hund B betrieben würde, z.B. durch ein täglich durchgeführtes MLC-matching von Lymphozyten aus Hund A und Hund B. Erst wenn dann im Organismus von Hund A eine maximale Suppression der Reaktivität gegen DLA-Antigene von Hund B herrscht, sollte als 3.Operation die allogene Nierentransplantation erfolgen.

Natürlich ist es fraglich, ob sich dieser neue, theoretisch denkbare Versuchsansatz in der Praxis auch durchführen läßt, da in diesem Fall eine 3.Operation von Hund A überstanden werden müßte. Die Gesamttraumatisation an Hund A durch eine Einführung einer dritten Operation würde aber nicht übermäßig erhöht, da die 2.Operation an Hund A (bisher: kombinierte Milz- und Nierentransplantation) auf eine bloße Milzrücktransplantation reduziert werden könnte und bei der ersten Operation an diesem Hund die Nephrektomie entfallen würde.

Möglicherweise würde es auch eine operativ-technische Vereinfachung des Experimentes mit geringerer Gesamttraumatisation der Versuchstiere bedeuten, anstelle der allogenen Nierentransplantation zur Introduktion von DLA-Antigenen auf die Milztransplantation eine allogene Hauttransplantation von Hund B auf Hund A folgen zu lassen. Bramis, Schanzer und Taub (25) berichten sogar, daß der Effekt einer Suppressor-T-Zellaktivität zur spezifischen Immunsuppression bei allogenen Hauttransplantationen auffälliger war, als bei allogenen Nierentransplantationen.

Insgesamt konnte gezeigt werden, daß die zweimalige (allogene Hin-, autologe Rück-) Transplantation der Milz am Hund ein praktikables und sinnvolles Versuchsmodell darstellt, das sich zum Studium von Phänomenen eignet, welche im weiten Übergangs- und Grenzgebiet zwischen Chirurgie und Immunologie zu beobachten sind.

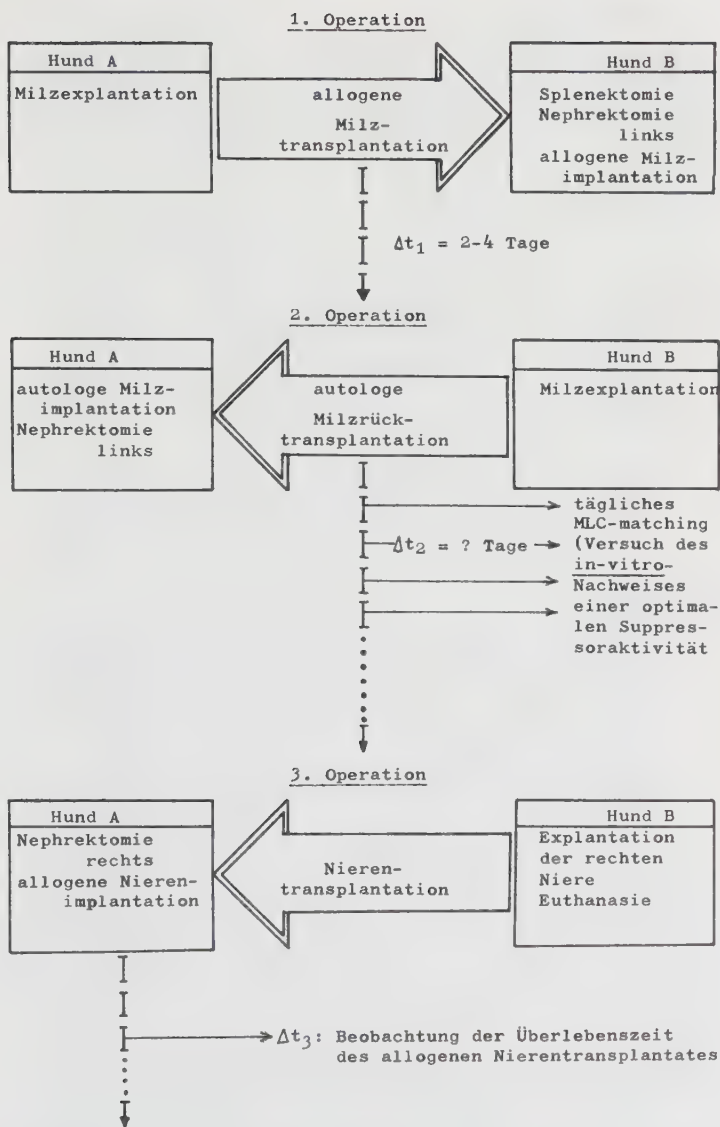


Abb. 69 Modifikation des Versuchsansatzes

5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der experimentellen Transplantationsforschung ist es, spezifische Methoden zur Unterdrückung der Abstoßungsreaktion zu erarbeiten. Während in der immunologischen Grundlagenforschung bereits eine Reihe spezifischer Suppressormechanismen bekannt ist ('T-Suppressor-Zellen', 'antiidiotypische Antikörper'), ist ihre praktische Anwendung in der Klinik noch nicht durchführbar, da entsprechende Untersuchungen an kliniknahen Modellen noch ausstehen.

Aufgrund der enormen Wichtigkeit dieser Thematik für die Organtransplantation am Menschen, wurde in Analogie zu bereits existierenden Versuchsanordnungen bei definierten Ratten-Inzuchtstämmen von uns zum Studium immunologischer 'feed-back'-Mechanismen am Großtier folgende experimentelle Versuchsanordnung getroffen:

1. Allogene Milztransplantation von Hund A auf Hund B.
2. Nach einem Intervall von 2-4 Tagen autologe Rücktransplantation der Milz von Hund B auf Hund A, verbunden mit einer gleichzeitigen allogenen Nierentransplantation von Hund B auf Hund A.
3. Erzielte immunologische Situation in Hund A:
Nebeneinander von nicht-immunen System (= lymphatische Organe außer der Milz) und immunes System (= zurücktransplantierte, sensibilisierte Milz) in Hund A;
anlaufende Immunantwort gegen das allogene Nierentransplantat von Hund B.

Ergebnisse:

1. Unter Anwendung einer neuen Technik (Durchführung einer speziellen Plastik im Bereich der venösen Anastomose bei Anschluß der Milz an die Nierengefäße nach Nephrektomie) und einer spezifischen intra- und postoperativen Versorgung der Versuchstiere, konnte in 15 Fällen eine erfolgreiche Milztransplantation und Milzrücktransplantation durchgeführt werden.
2. In allen 15 Fällen kam es zur Abstoßungsreaktion der transplantierten Niere bei Hund A nach durchschnittlich 8 Tagen (= kein Unterschied zu Kontrolltieren).
3. Die transplantierte und rücktransplantierte Milz war immunologisch voll aktiv: die Immunisierung von Hund A mit Erythrozyten vom Pferd führte zum Nachweis von Antikörpern gegen Pferdeerythrozyten bei Hund B nach Milztransplantation. In gleicher Weise führte die Immunisierung von Hund B mit Schaferythrozyten zum Nachweis von Antikörpern gegen Schafse-rythrozyten bei Hund A nach Rücktransplantation der Milz.

Die durchgeführte Versuchsanordnung erlaubt die Untersuchung von immunen Reaktionen gegen introduzierte allogene Histokompatibilitäts-Antigene beim nicht-ingezüchteten Großtier, wobei nicht-immune Lymphozyten von immunen Lymphozyten beeinflußt werden. Eine Suppressoraktivität, d.h. ein Transplantatüberlebenszeit verlängernder Effekt konnte allerdings in unseren Experimenten nicht nachgewiesen werden. Möglicherweise aber lassen sich ähnlich günstige Ergebnisse wie an ingezüchteten Nagern unter Variation der Zeitintervalle erreichen (insbesondere Variation des Zeitpunktes der allogenen Nierentransplantation von Hund B auf Hund A nach der autologen Milzrücktransplantation).

6. Literaturnachweis

Die gesamte, für diese Arbeit von mir zu Hilfe gezogene Literatur ist alphabetisch nach Erstautoren geordnet und fortlaufend nummeriert. Die Ziffern des Literaturverzeichnisses sind im Text jeweils hinter den zitierten Autoren in Klammern eingefügt.

- (1) Albert F.W., U.Schmidt, A.Brisam,
Dialysehepatitis
Therapiewoche 28, S.3326-3327, 1978
- (2) Allgöwer M. (Hrsg.)
Allgemeine und spezielle Chirurgie
3.Auflage, 1976, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- (3) Andersson L., H.Binz, H.Wigzell,
Idiotypic receptors on T-lymphocytes with specificity for
foreign MHC alloantigens; Ir genes and Ir antigens.
Academic Press, 1978, San Francisco
- (4) Banowsky L.H.,
The role of adjuvant operations in renal transplantation
Urol. Clin. North Am., 3 (3), 527-551, 1976
- (5) Barker C.F., Corriere J.N. Jr.,
Canine renal homotransplantation with venous drainage via the
portal vein.
Annals of Surgery, 165 (2), 279-282, 1967
- (6) Barnett J.B., C.Wust,
Levels of homocytotropic antibodies in hereditarily asplenic,
splenectomized and normal mice
Int.Archs.Allergy appl.Immun., 56, 558-562, 1978
- (7) Basten A., J.F.A.P. Miller, P. Johnson,
T-cell-dependent suppression of an anti-hapten antibody
response
Transpl.Rev. 26, 130-169, 1975
- (8) Batchelor J.R., L.Brent, P.J.Kilshaw,
Absence of suppressor-cells from rats bearing passively
enhanced kidney allografts
Nature, 270,(5637) pp. 522-524, 1977
- (9) Battisto J.R., J.W.Streilein,
Immunological aspects of the spleen
Proceedings of a conference of immunodynamics, Cleveland/Ohio
in May 1976,
Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1976
- (10) Battisto J.R. (Hrsg.)
Immunologic tolerance and macrophage function
Elsevier/North-Holland, Amsterdam, 1979
- (11) Becker V.,
Pathologisch-anatomische Grundlagen entzündlicher und tumorö-
ser Pankreaserkrankungen
Therapiewoche 27, S.4929-4937, 1977
- (12) Bedacht R.
Die traumatische Pankreasverletzung und ihre Komplikationen
Chir.Prax. 16, S.229-238, 1972

- (13) Binz H., H.Wigzell,
Horror autotoxicus?
Federation proceedings, Vol.37, No.10, 1978
- (14) Binz H.
Induction of anti-alloantibodies by alloantibody fragments
Scand.J.Immunol. Vol.3, No. 4, 387-390, 1974
- (15) Bitter-Suermann H., B.M. Herbertson,
Morphological features of spleen allografts in rats. Graft rejection, acceptance, or lethal graft-versus-host-disease in the same donor-recipient pairing.
Am.J.Path. Vol. 81, pp. 283-302, 1975
- (16) Bitter-Suermann H.
Splenic transplantation in rats
Acta Chirurgica Scandinavica, Suppl. 455,
Göteborgs Offsettryckeri AB, Stockholm, 1975
- (17) Bitter-Suermann H.
Prolonged survival of auxiliary spleen allografts in rats inducing acceptance of skin allografts
Transplantation 17, 75, 1974
- (18) Bitter-Suermann H.
Survival of unmodified spleen allografts in rats
Nature 247, 465, 1974
- (19) Bitter-Suermann H.
Induction of lethal graft versus host disease in rats by spleen grafting
J.Surg.Res. 17, 352, 1974
- (20) Bitter-Suermann H.
Different ways of using graft versus host reactivities to achieve acceptance of rat spleen allografts in the same donor-recipient pairing
Transplantation 18, p.515, 1974
- (21) Bitter-Suermann H.
Surgical aspects of spleen grafting in rats
Europ.Surg.Res. 7, 34-42, 1975
- (22) Brendel W.
Caniden als Versuchstiere für Organtransplantation
in: Das Tier im Experiment (Hrsg.: Wolf H. Weihe), S.78-91
Hans Huber Verlag, Bern - Stuttgart - Wien, 1978
- (23) Bourgault A.M., R.E. van Scoy, C.J.Wilkowske, S.Sterioff,
Severe Infection due to streptococcus pneumoniae in asplenic renal transplant patients
Mayo Clin.Proc. 54 (2), 123-126, 1979
- (24) Bramis J.P., H.Schanzer, C.Sloane, R.N.Taub,
Specific impairment of humoral and cellular allograft immunity after splenic allotransplantation in rats
Transplant Proc. 9 (1), 341-346, 1977
- (25) Bramis J.P., H.Schanzer, R.N.Taub,
Prolongation of rat renal allograft survival by cyclophosphamide and intravenous donor-specific antigens
Eur.Surg.Res. 9(2), 140-154, 1977

- (26) Burns F.D., C.P.Marrack, J.W.Kappler, C.A.Janeway,
Nature of spontaneously induced suppressor cells
J.Immunol. 114, 1345, 1975
- (27) Buschmann H., V.Junge, H.Kräußlich, A.Radzikowski,
A study of the immune response to sheep erythrocytes in
several breeds of swine
Med.Microbiol.Immunol. 159, 179-190, 1974
- (28) Callender C.O., D.E.Sutherland, R.J.Howard, L.H.Toledo-Pereyra,
J.S.Najarian,
Failure of pepsin-digested donor specific alloantibody to
prolong renal allograft survival in dogs
Immunol.Comm. 3(4), 309-319, 1974
- (29) Carrel A.
Results of the transplantation of blood vessels, organs and
limbs
J.Amer.med.Ass. 51, 1662, 1908
- (30) Carell A.
Remote results of the replantation of the kidney and the spleen
J.Exp.Med. 12, 146, 1910
- (31) Cerilli J., L.Jones,
A Reappraisal of the role of splenectomy in children receiving
renal allografts
Surgery 82 (4), 510-513, 1977
- (32) Chatterjee S.N.
Immunosuppressive drugs used in clinical renal transplantation
Urology 9, Suppl. 6, 52-60, 1977
- (33) Dammin G.J., H.B.Wheeler, A.C.W.Montague, J.B.Dealy, J.B.
Greenberg, F.D.Moore,
The splenic homograft: its course in the unmodified and modified
canine recipient
Ann.N.Y.Acad.Sci.99, 861, 1962
- (34) Dosch H.-M., E.W.Gelfand,
In vitro induction and measurement of hemolytic plaque forming
cells in man
Journal of Immunological Methods, 11, 107-116, 1976
- (35) Dostal G.
Der Einfluß des Splenektomie-Zeitpunktes auf die Verlängerung
der Überlebenszeit nach Nierentransplantation bei der Ratte
Chir.Forum Exp.Klin.Forsch., 250-253, 1977, No.4,
- (36) Dresser D.W., H.H.Wortis,
Use of an antiglobulin serum to detect cells producing antibody
with low haemolytic efficiency
Nature 208, 859, 1965
- (37) Dubois M., H.Beaufils, C.Brocheriou, M.Legrain,
Simultaneous allotransplantation of kidney and spleen in dogs
with or without previous splenectomy
Biomedicine, 25 (6), 221-223, 1976
- (38) Dutton R.W.
Suppressor-T-Cells
Transpl.Rev., Vol 26, 39-55, 1975

- (39) Eder M., P.Gedik (Hrsg.),
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie
30.Auflage, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1977
- (40) Editorial: Splenectomy and renal transplantation
Br.Med.J., 4 (5940), 307, 1974
- (41) Eloy R., D.Vuitton, J.P.Vaultier, A.Pousse, J.F.Grenier,
Decreased graft versus host reaction after intrahepatic lymphoid
tissue implantation
Cell.Immunol. 21 (2), 236-242, 1976
- (42) Enery Mc P.T., J.Flanagan,
Fulminant sepsis in splenectomized children with renal allografts
Transplantation 24(2), 154-155, 1977
- (43) Eyquem A., J.Oudot,
Observations biologiques chez des chèvres ayant subi des iso-
transplantations de rate
C.R.Acad.Sci. 237, 275, 1953
- (44) Fabre J.W., J.R.Batchelor,
The role of the spleen in the rejection and enhancement of renal
allograft in the rat
Transplantation 20 (3), 219-226, 1975
- (45) Fisher B., S.H.Lee, E.R.Fisher,
Observations concerning spleen homotransplantation in normal and
irradiated animals
Surg.Gynec.Obstet. 112, 455, 1961
- (46) Fisher K.A.
Azathioprin: Intoleranz voraussagbar
Selecta 37, 1976 (zitiert aus Lancet 1, 1976, S.828)
- (47) Fitch F.W., A.Weiss, T.J.McKearn, F.P.Stuart,
Graft enhancement and antiidiotypic antibody. Lymphocytes from
long-term rat renal allograft recipients have normal responsiveness
in vitro
Transplant Proc. 10 (2), 367-372, 1978
- (48) Freyberger H.
Psychosomatische Aspekte bei Dialysepatienten mit Berücksichtigung
der Feriendialyse und der Dialyse am Kurort
Therapiewoche 29, 1616-1620, 1979
- (49) Fudenberg H.H., D.P.Stites, J.L.Caldwell, J.V.Wells,
Basic and clinical immunology
2nd edition, Lange Medical Publications, Los Altos, Cal., 1978
- (50) Fukuda A., T.Hanaoka, A.C.Solowey, F.T.Rapaport,
Inhibition of second-set renal allograft responses by portal
vein drainage
Transplant.Proc. 1 (1), 602-604, 1969
- (51) Garvey J.S., M.Linker-Israeli,
Anti-SRBC plaque-forming cells in liver, spleen and hepatocyte
cell suspensions of rabbits and mice
Immunological Communications, 1 (5), 507-521, 1972
- (52) Gebhardt Ch., F.P.Gall, W.Link,
Chirurgische Behandlung der hämorrhagisch nekrotisierenden
Pankreatitis,
DDA 12, 29-33, 1980

- (53) George C.R., J.A.Tremann, I.J.Quadracci, G.E.Striker,
T.L.Marchioro,
The spleen in chronic renal failure and renal transplantation
Proc.Clin.Dial.Transplant.Forum 2, 1-4, 1972
- (54) Gershon R.K., K.Kondo,
Cell interactions in the production of tolerance: the role
of the thymic lymphocytes
Immunology 18, 723, 1970
- (55) Gershon R.K., P.Cohen, R.Hencin, S.A.Liebhaber,
Suppressor T cells
J.Immunol. 108, 586, 1972
- (56) Gershon R.K., E.M.Lance, K.Kondo,
Immuno-regulatory role of the spleen localizing lymphocytes
J.Immunol. 112, 546, 1974
- (57) Gershon R.K.
A disquisition on suppressor T cells
Transpl.Rev. 26, 170-185, 1975
- (58) Harting K.
Erg. Anat. 34, Abb.19, 1952 (zitiert in 9);
- (59) Hay J.B., B.Morris,
Generation and selection of specific reactive cells by antigen
Br.Med.Bull. 32 (45), 135-140, 1976
- (60) Heberer G., W.Köle, H.Tscherne (Hrsg.),
Chirurgie
2.Auflage, 1979, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- (61) Heidler R., U.Gessler, W.Schulz,
Betreuung des Hämolyse-Patienten durch den Hausarzt
Fortchr.Med. 95 (7), 426-430, 1977
- (62) Herrath E.v.
Bau und Funktion der normalen Milz
1.Auflage, 1958, Walter de Gruyter & Co, Berlin
- (63) Hiramoto R.N., J.R.McGhee, D.C.Hurst, N.M.Hamlin,
A simple method for quantitation of hemolytic antibodies
Immunochemistry, Pergamon Press, Vol 7, 992-996, 1970
- (64) Hör G., G.Buttermann, W.Theisinger, H.W.Pabst,
Prevention of postoperativ thromboembolism by various
treatments
Europ.J.nucl.Med. 1, 197-203, 1976
- (65) Howard J.G., N.A.Mitchison,
Immunological tolerance
Prog.Allergy 18, 43, 1975
- (66) Hübner K.
Pathologisch-anatomische Übersicht der Pankreaserkrankungen
Therapiewoche 28, 6876-6890, 1978
- (67) Ingraham J.S., A.Bussard,
Application of localized hemolysin reaction for specific
detection of individual antibody forming cells
J.Exp.Med. 119, 667, 1964

- (68) Ingraham J.S.
Identification individuelle des cellules productrices
d'anticorps par une reaction hemolytique locale
C.R.Acad.Sci. 256, 5005, 1963
- (69) Jamieson S.
Cardiac Transplantation in 150 patients at Stanford
University
Brit.med.J. 6156, 93-95, 1979
- (70) Jerne N.K., A.A.Nordin,
Plaque formation in agar by antibody-producing cells
Science 140, 405, 1963
- (71) Jerne N.K., A.A.Nordin, C.Henry,
The agar plaque technique for recognizing antibody-producing
cells. Cell-bound antibodies.
Wistar Institute Press, S.109, 1963
- (72) Jordan G.L., W.G.Fiscus, J.J.Trentin, R.P.Forster, V.P.Collins,
H.L.Barton,
Splenic transplantation in the dog
Ann.N.Y.Acad.Sci. 120, 612, 1964
- (73) Karalakulasingham R., K.K.Arora, G.Adams, F.Serratori,
D.G.Martin,
Meningoencephalitis caused by histoplasma capsulatum:
occurrence in a renal transplant recipient and a review of
the literature
Arch.Intern.Med. 136 (2), 217-220, 1976
- (74) Katz D.H., B.Benacerraf,
Immunological tolerance
Academic press, New York, 1975
- (75) Kearn T.J.Mc.
Antireceptor antiserum causes specific inhibition of reactivity to rat histocompatibility antigens
Science, Vol. 183, 94-96, 1974
- (76) Keller R.
Immunologie und Immunpathologie
1.Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1977
- (77) Kemeny M.M., V.H.Covelli, H.S.Sise, J.C.Norman,
Circulating antihemophilic globulin (factor VIII) responses
to adrenalin infusion: test of transplanted rodent and dog
splenic function
Surg.Forum 19, 190, 1968
- (78) Kennedy J.C., M.A.Axelrad,
An improved assay for hemolytic plaque-forming cells
Brief Communication
Immunology, 20, 253-257, 1971
- (79) Köhler H.
Regulation of immune responses by anti-receptor antibody
Annals of clinical and laboratory science, Vol.8, No.4, 1978
- (80) Kolb E.
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, Teil I
Fischer-Verlag, Leipzig, 1974

- (81) Kolb E.
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, Teil II
Fischer-Verlag, Leipzig, 1974
- (82) Kountz S.L., R.Cohn,
Prolonged survival of a renal homograft by simultaneously
splenectomy and splenic motransplantation
Surgical forum, 13, 59, 1962
- (83) Kraft H.
Labormethoden der Veterinärmedizin bei Haussäugetieren
2.Auflage, Leik-Druck GmbH, Kehlheim, 1964
- (84) Krech U.
Immuntoleranz
in: Praxis der Immunologie (Hrsg.: K.O.Vorlaender)
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1976
- (85) Kreis H., L.H.Noel, M.Lacombe, J.M.Descamps, J.Chailley,
J.Crosnier,
Kidney-graft rejection: has the need for steroids to be
re-evaluated?
Lancet 2, 1169-1172, 1978
- (86) Krivit W.
Overwhelming postsplenectomy infection
Am.J.Hematol. 2 (2), 193-201, 1977
- (87) Krivit W., G.S.Giebink, A.Leonard,
Overwhelming postsplenectomy infection
Surg.Clin.North Am. 59 (2), 223-233, 1979
- (88) Land W., C.Hammer,
Persönliche Mitteilungen
- (89) Largiadèr F. (Hrsg.)
Organ Transplantation
2.Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1970
- (90) Lie T.S., H.Ebata, F.Boehmer, H.Nakano, R.Schmidt,
Aktives Enhancement der Rattennierenallotransplantate
Z.Immunitätsforsch. 147 (2), 175-188, 1974
- (91) Lie T.S., H.Ebata, W.I.Kim, U.Gruenn,
Active enhancement of rat kidney allografts. Effect of
pretreatment with prednisolone and donor-specific antigen.
Transplantation 21 (2), 103-109, 1976
- (92) Lie T.S., H.Nakano, A.Holst, P.Oehr, S.Y.Choo,
Aktives Enhancement von Hundenierenallotransplantaten
Z.Immunitätsforsch. 151 (3), 250-253, 1976
- (93) Lie T.S., M.Kanda, W.I.Kim, A.Holst, A.Kawamura, H.J.Biersack
Immunologischer Status permanent überlebender Allonieren-
transplantatempfänger nach kurzer initialer ALS-Therapie.
Nachweis des blockierenden Serum-Faktors durch den Allo-
rosettenformations-inhibitionstest
Res.Exp.Med.(Berl) 167 (2), 171-183, 1976
- (94) Lillehei R.C., K.Longerbeam, S.Hital, E.Yunis,
A comparison of whole spleen autografts, shielded spleen,
and whole spleen homogenates in the treatment of irradiation
sickness in dogs
Surg.Forum 11, 31, 1960

- (95) Ludwig H., G.Schernthaner,
Die Bedeutung immunologischer Mechanismen in der Pathogenese
renaler Erkrankungen (Teil 1 und Teil 2)
Med.Klin. 73, Nr. 19, 681-690, 1978
- (96) Mahajan D.R., R.Crampton, D.G.Miller, M.Melamed, W.Lawrence,
Canine spleen transplantation, Effect of 6-MP on homograft
rejection
J.S.R., Vol 5, No. 9, 413, 1965
- (97) Maki T., A.Sakai, O.Pettrossi, S.L.Kountz,
En bloc transplantation of the liver, pancreas, duodenum,
spleen and kidney in the rat
Transplantation, 24 (4), 256-262, 1977
- (98) Marchioro T.L., D.T.Rowlands, D.Rifkind, W.R.Waddell, E.
Starzl, H.Fudenberg,
Splenic homotransplantation
Ann.N.Y.Acad.Sci. 20, 626, 1964
- (99) Matas A.J., R.J.Desnick, J.S.Najarian, R.L.Simmons,
Clinical and experimental transplantation in enzymatic
deficiency disease
Surg.Gynecol.Obstet. 146 (6), 975-982, 1978
- (100) Matt E.M., U.F.Gruber,
Prophylaxe postoperativer thromboembolischer Komplikationen
mit subcutan verabreichten kleinen Heparin-Dosen
Fortschr.Med. 95 (10), 1977
- (101) May A.G., S.Bauer, J.P.Leddy, B.Panner, J.Vaughan, P.S.Russell,
Survival of allografts after hepatic portal venous admini-
stration of specific transplantation antigen
Annals of Surgery, 170 (5), 824-832, 1969
- (102) Mazzoni G., J.Benichou, K.A.Porter, T.E.Starzl,
Renal homotransplantation with venous outflow or infusion of
antigen into the portal vein of dogs or pigs. Transplantation
at portal site.
Transplantation 24 (4), 268-273, 1977
- (103) Melliére D.
Variations des artères hépatiques et du carrefour pancréatique
J.Chir. 95, 5-42, 1968
- (104) Monaco A.P., A.Liegeois, M.L.Wood, A.W.Clark,
Active enhancement of tissue allografts with antilymphocyte
serum and bone marrow
Adv.Nephrol. 5 (50), 135-172, 1975
- (105) Montague A.C.W., J.B.Greenberg, G.J.Dammin, F.D.Moore,
The effect of nitrogen mustard in altering the histocompati-
bility rejection sequence in splenic homotransplantation in
the dog
J.S.R., Vol 2, No. 2, 130, 1962
- (106) Mühe E., K.H.Burghardt, W.Kolb, G.Strobel,
Eine neue Methode zur Prophylaxe postoperativer Venenthrom-
bosen
Klinik-Arzt 3, 88-92, 1975

- (107) Nachtigal D., I.Zan-Bar, M.Feldman,
The role of specific suppressor T cells in immune tolerance
Transpl.Rev. Vol.26, 87-105, 1975
- (108) Neher M.
Zur frühzeitigen Operation bei akuter Pancreatitis
Therapiewoche 27, 4973-4979, 1977
- (109) Norman J.C., V.H.Covelli, H.S.Sise,
Transplantation of the spleen: experimental cure of
hemophilia
Surgery 64 (1), 1968
- (110) Opèlz G., P.L.Terasaki,
Effect of splenectomy at human renal transplants
Transplantation, 15 (6), 605-609, 1968
- (111) Pabst H.W., G.Maurer,
Postoperative Thromboembolie-Prophylaxe
6.Rothenburger Gespräch
1.Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York, 1977
- (112) Penn I.
Tumors arising in organ transplant recipients
Adv.Cancer Res., Vol. 28, 31-61, 1978
- (113) Pichlmayr R., B.Grotelüschen
Chirurgische Therapie
1.Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1978
- (114) Pierce J.C., MacDonald G.L., R.L.Varco,
An epinephrine test for evaluating the functional survival
of splenic transplants in dogs
Surg.Forum, 12, 110, 1961
- (115) Rai G.S., R.Wilkinson, R.M.Taylor, P.R.Uldall, D.N.Kerr,
Adverse effect of splenectomy in renal transplantation
Clin.Nephrol. 9 (5), 194-199, 1978
- (116) Ramm B., G.Hofmann,
Biomathematik und medizinische Statistik
1.Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 1976
- (117) Renner E. (Hrsg.)
Farbatlanten der Medizin, Band 2: Niere und Harnwege
The Ciba Collection of Medical Illustrations (F.N.Netter)
1.Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1976
- (118) The 13th Report of the human renal transplant registry
Transplant Proc. 9 (1), 9-26, 1977
- (119) Reutter F.W.
Moderne Nierendiagnostik
in: diagnostica dialog, Boehringer Mannheim, Nr.3, 1978
- (120) Riesen W., S.Barandun
Struktur und Funktion von Antikörpern
Sandorama 2, 22-25, 1979
- (121) Rilke F.
6.Europäischer Zytologenkongress (Weimar 1976)
in: Deutsches Ärzteblatt, Nr.9, 1977

- (122) Rodeck G., B.Ulshöfer
Nierentransplantation
Therapiewoche 29, 1629-1632, 1979
- (123) Rozing J., N.H.C.Brons, R.Brenner,
Effects of splenectomy on the humoral immune system
Immunology 34, 909, 1978
- (124) Russel S.W., C.B.Hansen, G.Y.Gillespie,
Isolation of T-Lymphocytes from disaggregated tumors
J.Nat.Canc.Inst. 59, 273, 1977
- (125) Sampson D., C.Grotelueschen, H.M.Kauffman,
Inhibition of the mixed lymphocyte reaction by human splenic
suppressor cells
Transplantation, 3, 138, 1975
- (126) Sampson D., Rankel R.J., A.J.La Porta, J.Metzig,
Suppressor cells in man, dogs and transplantation
J.Surg.Res. 22 (4), 385-391, 1977
- (127) Sandritter W., C.Thomas,
Makropathologie
4.Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York, 1977
- (128) Sandritter W., C.Thomas,
Histopathologie
7.Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York, 1977
- (129) Scheffel J.W., T.M.Setcavage, Yoon Berm Kim,
IgM and IgG direct plaque-forming cells develop during the
immune response of miniature swine to sheep erythrocytes
Cellular Immunology 44, 109-124, 1979
- (130) Schieferstein G., W.Adam, J.Dethlefs, P.Sadowski,
F.Freudlsperger,
Gefahren einer zytostatischen und immunsuppressiven Therapie
Dtsch.med.Wschr. 103, 1521-1526, 1978
- (131) Schmid M.
Akute nekrotisierende Pankreatitis
Therapiewoche 28, 6923-6936, 1978
- (132) Schmidt H.
Klinisch-diagnostische Gesichtspunkte und konservative
Therapie der Pankreatitiden
Therapiewoche 27, 4961-4968, 1977
- (133) Schmidt W.
Versuche zum Nachweis der immunologischen Toleranz mittels
der Jerne-Technik
Dissertation an der Ludwig-Maximilians-Universität,
München, 1975
- (134) Schönitzer D.
Gewebetypisierung - ihre klinische Bedeutung
Z.Allg.Med. 55, 1373-1375, 1979
- (135) Schroeter G.P., J.C.West, R.Weil,
Acute bacteremia in asplenic renal transplant patients
JAMA, 237 (20), 2207-2208, 1977

- (136) Schulak J.A., J.L.Hill, C.R.Reckard, S.J.Simonian, F.P.Stuart
Infections and functional consequences of splenectomy in
adult renal transplant recipients
J.Surg.Res. 25 (5), 404-408, 1978
- (137) Seidenspinner G.
Wissenschaftliches Arbeiten
4.Auflage, Verlag Mayer & Söhne KG, Aichach, 1975
- (138) Seifert G. (Hrsg.)
Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Pathologie
54.Tagung (Berlin, 16.-19.3.1970)
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1970
- (139) Sennekamp J., B.Savic, D.Schulz, D.Ricken,
Enzymatische und morphologische Befunde bei Transplantatio-
nen von Milzen an Hunden
Kongress für Innere Medizin, Vol.78, 1585,
- (140) Shaipanich T., R.R.Vanwijck, J.-P.Kim, P.Lukl, G.J.Busch,
R.E.Wilson,
Enhancement of rat renal allografts with F(ab')₂ fragment of
donor specific anti-kidney serum
Surgery, Vol. 70 (1), 113-121, 1971
- (141) Silber S.J., J.F.Miller, P.J.Morris,
Graft-versus-host reactivity and renal allograft survival
in rats given allogeneic spleen cells or spleen allografts
Transplantation 22 (2), 160-166, 1976
- (142) Singer D.E., R.M.Williams,
Hypothesis: Altered idiotype induces immune Suppression
Cellular Immunology, 39, 1-4, 1978
- (143) Sjöberg O., S.Bitton,
Antigenic competition in vitro between heterologous
erythrocytes
Eur.J.Immunol. Vol 2 (3), 282-288, 1972
- (144) Souther S.G., R.E.Morris, L.M.Vistnes,
Prolongation of rat cardiac allograft survival by splene-
ctomy following transplantation
Transplantation, Vol. 21, 1974 (March)
- (145) Sterzl J., I.Riha,
A localized haemolysis in gel method for the detection of
cells producing 7S antibody
Nature, 208, 858-859, 1965
- (146) Struck E., H.Meisner, S.Hagl, N.Mendler, P.Schmidt-Habelmann,
F.Sebening,
Klinische Herztransplantation
Med.Klin. 73 (13), 435-446, 1978
- (147) Stuart F.P., T.J.McKearn, F.W.Fitch.,
Immunological enhancement of renal allografts
Transplant Proc. 6 (33), 53-58, 1974
- (148) Stuart F.P., T.J.McKearn, F.W.Fitch,
Immunological enhancement of renal allografts by antirecep-
tor antibody
Surgery, 80 (1), 130-136, 1976

- (149) Stuart F.P., D.M.Scollard, T.J.McKearn, F.W.Fitch,
Cellular and humoral immunity after allogeneic renal trans-
plantation in the rat, Verus: Appearance of anti-idiotypic
antibody and its relationship to cellular immunity after
treatment with donor spleen cells and alloantibody
Transplantation 22 (5), 455-466, 1976
- (150) Stuart F.P., T.J.McKearn, F.W.Fitch,
Enhancement of rat renal allograft with monoclonal antibody
Surgery 86 (1), 30-35, 1979
- (151) Sullivan J.L., H.D.Ochs, G.Schiffman, M.R.Hammerschlag,
J.Miser, E.Vichinsky, R.J.Wegdwood,
Immune response after splenectomy
The Lancet, No.1, 1978
- (152) Swanson M.K., W.R.McGregor, R.E.Rodgers, H.M.Kauffman Jr.,
Timing of splenectomy in human kidney transplantation
Surg.Forum 24, 283-285, 1973
- (153) Talley T.E., C.L.Linke, C.A.Linke, A.G.May, C.Andrus, M.F.
Bryson, A.T.Cockett, I.N.Frank, R.B.Freeman, W.A.Greene,
R.G.Merin, R.C.Pabico, R.C.Ufferman, Y.N.Yakub,
Bilateral nephrectomy and splenectomy in renal failure
Urology, 4 (4), 378-383, 1974
- (154) Taub R.N., H.Schanzer, J.Bramis,
Induction of specific immunological tolerance to histocom-
patible renal and skin allografts after donor strain spleen
implantation
Proc.Eur.Dial.Transplant.Assoc. 12, 423-428, 1976
- (155) Trapnell J.E., C.C.Rigby, C.H.Talbot, E.H.L.Duncan,
A controlled trial of Trasylol® in the treatment of acute
pancreatitis
Brit.J.Surg, 61, 177-182, 1974
- (156) Vaupel P., H.Ruppert, H.Hutten,
Spleenic blood flow and interspleenic flow distribution in rats
Pflügers Archiv, European Journal of Physiology, 369, 193-201,
1977
- (157) Weck A.L.de,
Neue immunologische Perspektiven der spezifischen Desensibi-
lisierung
Autorreferat, Therapiewoche 27, 5967, 1977
- (158) Weigle W.O., B.J.Skidmore,
Immunological unresponsiveness
Advanc.Immunol. 16, 61, 1973
- (159) Weigle W.O., D.G.Sieckmann, M.V.Doyle, J.M.Chiller,
Possible roles of suppressor cells in immunological tolerance
Transpl.Rev., Vol 26, 186-205, 1975
- (160) Westhues M., R.Fritsch,
Die Narkose der Tiere, Band II: Allgemeinnarkose,
1.Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg, 1961
- (161) Wheeler H.B., O.Balankura, J.E.H.Pendower, J.B.Greenberg,
G.J.Dammin, F.D.Moore,

The homograft response to whole-organ transplantation of
the canine spleen
J.Surg.Res., Vol 2 (2), 114, 1962

- (162) Wigzell H., H.Binz, L.Anderson,
Induction of specific unresponsiveness to transplantation
antigens
Scand.J.Urol.Nephrol.Suppl. 42, 12-17, 1977

Anhang A 1

Folgende Laborwerte standen bei diesen Versuchen für die klinisch-chemische Routinediagnostik an Serum und Urin der Hunde zur Verfügung. Sie wurden aus der Literatur (83) in Tabellenform zusammengefaßt.

Tab. 18 Normalwerte Hund	
Hämatokrit	37 - 55 %
Erythrozyten	(5,5-8,0) · 10 ⁶ /mm ³
Leukozyten	8.000 - 12.000/mm ³
Thrombozyten	188.000 - 960.000/mm ³
Blutungszeit	1 - 5 Minuten
Gerinnungszeit	1 - 3 Minuten
Hämoglobin	12 - 18 g/100 ml
Blutbild:	
Basophile Granulozyten	0,3 %
Eosinophile Granulozyten	3,0 %
Neutrophile Granulozyten	70,0 %
Lymphozyten	12 - 30 %
Monozyten	3,0 %
Serum:	
Kreatinin	1,0 - 1,5 mg/100 ml
Harnstoff	25 - 60 mg/100 ml
Urin:	
bernsteingelbe Farbe, klar durchsichtig, wässrige Konsistenz, fleischbrüh- knoblauchartiger Geruch	
pH	6,0 - 7,0
Ketone	1,00 - 4,00 mg/l

"You can't always get, what you want ...

but if you try sometimes, you just might find, you get what you need"

(Jagger-Richard, The Rolling Stones,
'Let it bleed')

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c. Brendel möchte ich für die Ermöglichung dieser Arbeit an seinem Institut danken. Ohne sein persönliches, sehr großes Engagement für das ganze Transplantationsprojekt wäre auch diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Herrn Prof.Dr.Land (Transplantationszentrum der Chirurgischen Klinik der Universität, Klinikum Großhadern) möchte ich die Dankbarkeit eines Schülers entgegenbringen. Er hat mir mit großer Fachkenntnis und mit noch mehr Geduld die Grundlagen der Transplantationschirurgie beigebracht.

Herrn Prof.Dr.Dr. Hammer (Institut für Chirurgische Forschung) gilt mein Dank für seine Betreuung des immunologischen Teils dieser Arbeit, für seine große Hilfsbereitschaft und für seine nützlichen Ratschläge.

Herrn Dr. Permanetter (Pathologisches Institut der Universität) danke ich für die prompte Aufarbeitung der histologischen Proben und für seine kollegiale und interessierte Zusammenarbeit.

Herr Dr. Stritzinger vom Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät der Universität in Oberschleißheim stellte uns freundlicherweise viele Male frisches Schaf- und Pferdeblut für die Immunisierungen unserer Hunde zur Verfügung.

Herr Dr. Scholz (Labor für Gewebetypisierung der Kinderpoliklinik) übernahm freundlicherweise die DLA-Typisierung der Lymphozyten aus dem peripheren Blut unserer Versuchstiere.

den Damen aus dem Transplantationszentrum, Frl. Lütjens, Frl. Kübelbäck und Frl. Erdle möchte ich für ihre Mitarbeit bei den Operationen und den Routinelaborarbeiten herzlich danken,

ebenso allen Damen aus den Labors des Instituts für Chirurgische Forschung für ihre jederzeit zur Verfügung gestellte Hilfe.

Ganz besonders bedanke ich mich schließlich bei den Damen und Herren aus dem Tierstall, die uns in unglaublicher Weise ihre Hilfe bei der Versorgung unserer vierbeinigen Intensivpatienten entgegenbrachten.

Lebenslauf

Geboren: 22.Mai 1957
in: Landshut

Eltern: Dr. Josef Hofmann, Diplom-Physiker und Mathilde Hofmann, geb. Betz, Medizinisch-technische Assistentin

Schul Ausbildung: 1963-1967 Volksschule an der Jahnstraße, Unterhaching
1967-1976 Asam-Gymnasium, München-Giesing
Abitur 1976 in München

Stipendium: 1977 vorläufige Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes durch Schulvorschlag (Abiturdurchschnitt: 1,0) und Auswahlseminar.
1978 endgültige Aufnahme.

Studium: Herbst 1976: Immatrikulation für Humanmedizin
1976 - 1978: Vorklinische Semester an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Sommer 1978: Ärztliche Vorprüfung
seit 1978: Klinische Semester an der Ludwig-Maximilians-Universität
Sommer 1979: 1.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Sommer 1981: 2.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Herbst 1977: Immatrikulation für Physik (Doppelstudium)
1977 - 1979: Vordiplom-Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität
Herbst 1979: Vordiplom-Prüfung
seit 1980: Hauptdiplom-Studium an der Technischen Universität München

Famulaturen: Chirurgische Klinik der Universität, Klinikum Großhadern (Prof.Dr.Heberer)
Chirurgische Klinik Prof.Dr.Hart, München-Solln
Allgemeinpraxis Dr.R.Bernhardt, München-Ottobrunn

Familienstand: ledig

